

---

**TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI**  
Fakulta mechatroniky, informatiky a mezioborových studií

Studijní program: B3942- Nanotechnologie

Studijní obor: 3942R002 – Nanomateriály

**Možnosti kombinace nanotechnologie a fyzikálních  
polí v biologickém hybridním reaktoru**

**Possibility of combining nanotechnology and  
physical fields in a hybrid biological reactor**

**Bakalářská práce**

Autor:	<b>Tomáš Janoušek</b>
Vedoucí práce:	Ing. Lucie Křiklavová
Konzultant:	Ing. Tomáš Dub

V Liberci 18. 05. 2013

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Tomáš Janoušek**  
Osobní číslo: **M10000061**  
Studijní program: **B3942 Nanotechnologie**  
Studijní obor: **Nanomateriály**  
Název tématu: **Možnosti kombinace nanotechnologie a fyzikálních polí v biologickém hybridním reaktoru**  
Zadávající katedra: **Ústav nových technologií a aplikované informatiky**

### Zásady pro vypracování:

1. Vypracování odborných rešerší na téma: využití nanotechnologie při čištění odpadních vod; problematika (elektro)magnetického pole; možnosti (elektro)magnetického pole v biologii (vliv na mikroorganismy).
2. Zpracování metodiky měření a vyhodnocení vzorků, které jsou ovlivňovány (elektro)magnetickým polem.
3. Provozování laboratorního modelu s reálnými mikroorganismy (měření fyzikálních a chemických parametrů).
4. Identifikace limitních stavů biofilmových reaktorů.
5. Zhodnocení dosažených výsledků včetně popisu využití v reálné praxi.

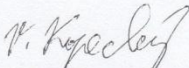


Rozsah grafických prací: dle potřeby  
Rozsah pracovní zprávy: cca 45 stran  
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná/elektronická  
Seznam odborné literatury:

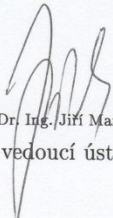
- [1] DIALLO, M., et al.: Nanotechnology Applications for Clean Water. William Andrew, 1st ed., ISBN-10: 0815515782, ISBN-13: 978-0815515784, 2009.
- [2] PAPAZOGLU, E. S., PARTHASARATHY, A., BioNanotechnology. Morgan and Claypool Publishers, 1st ed., ISBN-10: 1598291386, ISBN-13: 978-1598291384, 2007.
- [3] HAŇKA, L.: Teorie elektromagnetického pole, SNTL, ISBN 0450682, Praha 1975.
- [4] KATO, M.: Electromagnetics in Biology, Springer 2006, ISBN-13 978-4-431-27913-6.
- [5] SEDLÁK, B., ŠTOLL, I.: Elektřina a magnetismus. Praha: ACADEMIA, 2002. ISBN 80-200-1004-1.

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Lucie Křiklavová  
Ústav nových technologií a aplikované informatiky

Datum zadání bakalářské práce: 18. října 2012  
Termín odevzdání bakalářské práce: 17. května 2013

  
prof. Ing. Václav Kopecký, CSc.  
děkan



  
prof. Dr. Ing. Jiří Maryška, CSc.  
vedoucí ústavu

V Liberci dne 18. října 2012

Technická univerzita v Liberci  
Fakulta mechatroniky, informatiky a mezioborových studií  
Akademický rok: 2012/2013

Studijní program: Nanotechnologie  
Forma: Prezenční  
Obor/komb.: Nanomateriály (NA)

Podklad pro zadání BAKALÁŘSKÉ práce studenta

PŘEDKLÁDÁ:	ADRESA	OSOBNÍ ČÍSLO
Janoušek Tomáš	Lounská 498, Liberec - Liberec VII-Horní Růžodol	M10000061

TÉMA ČESKY:

Možnosti kombinace nanotechnologie a fyzikálních polí v biologickém hybridním reaktoru

NÁZEV ANGLICKY:

Possibility of combining nanotechnology and physical fields in a hybrid biological reactor

VEDOUCÍ PRÁCE:

Ing. Lucie Křiklavová – NTI

ZÁSADY PRO VYPRACOVÁNÍ:

1. Vypracování odborných rešerší na téma: využití nanotechnologie při čištění odpadních vod; problematika (elektro)magnetického pole; možnosti (elektro)magnetického pole v biologii (vliv na mikroorganismy).
2. Zpracování metodiky měření a vyhodnocení vzorků, které jsou ovlivňovány (elektro)magnetickým polem.
3. Provozování laboratorního modelu s reálnými mikroorganismy (měření fyzikálních a chemických parametrů).
4. Identifikace limitních stavů biofilmových reaktorů.
5. Zhodnocení dosažených výsledků včetně popisu využití v reálné praxi.

SEZNAM DOPORUČENÉ LITERATURY:

- [1] DIALLO, M., et al.: Nanotechnology Applications for Clean Water. William Andrew, 1st ed., ISBN-10: 0815515782, ISBN-13: 978-0815515784, 2009.
- [2] PAPAOGLOU, E. S., PARTHASARATHY, A., BioNanotechnology. Morgan and Claypool Publishers, 1st ed., ISBN-10: 1598291386, ISBN-13: 978-1598291384, 2007.
- [3] HAŇKA, L.: Teorie elektromagnetického pole, SNTL, ISBN 0450682, Praha 1975.
- [4] KATO, M.: Electromagnetics in Biology, Springer 2006, ISBN-13 978-4-431-27913-6.
- [5] SEDLÁK, B., ŠTOLL, I.: Elektřina a magnetismus. Praha: ACADEMIA, 2002. ISBN 80-200-1004-1.

Podpis studenta: .....

Datum: .....

Podpis vedoucího práce: .....

Datum: .....

## PROHLÁŠENÍ

Byl jsem seznámen s tím, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé bakalářské práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li bakalářskou práci, nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědom povinnosti informovat o této skutečnosti TUL; v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Bakalářskou práci jsem vypracoval samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím bakalářské práce a konzultantem.

Datum

Podpis

## **PODĚKOVÁNÍ**

Velice bych chtěl poděkovat za odborné vedení při práci v laboratoři, rady a poskytnuté vědomosti panu Ing. Tomáši Dubovi a paní Ing. Lucii Křiklavové. Dále bych chtěl poděkovat zaměstnancům školy a studentům, se kterými jsem se setkal v Laboratoři sanačních technologií ústavu NTI a v laboratoři biotechnologií Ústavu pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace TUL, za příjemné pracovní prostředí.

## ABSTRAKT

Práce se zabývá využitím elektromagnetického pole v biologickém hybridním reaktoru. Hlavním cílem je sledovat vliv elektromagnetického pole na biodegradaci fenolu. Další pozorování a vyhodnocování experimentu se zabývá, jak ovlivní elektromagnetické pole adhezi bakterií rodu *Rhodococcus erythropolis* na nanovláknový nosič a tvorbu bakteriálního biofilmu. Experimenty byly provozovány jako kontinuální průtokové bioreaktory se stejným typem nanovláknového nosiče, kde jeden reaktor byl po celou dobu experimentu, ovlivňován elektromagnetickým polem, druhý byl realizován jako kontrolní vzorek (bez vlivu elektromagnetického pole).

**Klíčová slova:** elektromagnetické pole, biologický hybridní reaktor, biodegradace, nanovláknový nosič

## ABSTRACT

This thesis deals with the use of electromagnetic field in biological hybrid reactor. The main task is to observe the influence of the electromagnetic field on biodegradation of phenol. Other observations and evaluations of the experiment deals with the effect of the electromagnetic field on adhesion of *Rhodococcus erythropolis* bacteria to the nanofibre carrier and the creation of bacterial biofilm. The experiments were made as continual flow-through bioreactors with the same type of nanofibre carrier, where one reactor was influenced by the electromagnetic field for the whole duration of the experiment, the other was constructed as a control sample (without the influence of the electromagnetic field).

**Keywords:** electromagnetic field, biological hybrid reactor, biodegradation, nanofibre carrier



# Obsah

Prohlášení.....	5
<b>Poděkování.....</b>	<b>6</b>
Abstrakt.....	7
Abstract .....	8
Obsah .....	9
Seznam nepoužívanějších symbolů, zkratek a termínů .....	11
Seznam obrázků.....	12
Seznam grafů .....	12
1 Úvod.....	13
Teoretická část .....	14
2 Elektromagnetické pole .....	14
2.1    Problematika elektromagnetického pole .....	14
2.2    Kvazistacionární a točivé elektromagnetické pole.....	15
2.3    Reaktor s točivým magnetickým polem.....	16
2.4    Elektromagnetická pole a mikroorganismy.....	18
3 Biologická odbourávání fenolu.....	19
3.1    Fenol.....	19
3.2    Bakterie Rhodococcus Erythropolis.....	21
3.3    Bakteriální růst .....	22
3.4    Biofilm .....	22
3.5    Biodegradace fenolu.....	23
4 Rešerže vliv statického a kvazistacionárního magnetického pole na mikroorganismy.....	24
Praktická část-materiály a metody .....	25
5 Laboratorní model.....	25
6 Nosič biofilmu .....	28
6.1    Výjimečné vlastnosti nanovláknenných nosičů .....	28
6.2    Charakterizace nanovláknenného nosiče .....	29
6.3    Nanovláknenná nit.....	30

7 Užití metody měření.....	30
7.1 Stanovení fenolu.....	30
7.2 Amoniaky $\text{NH}_4\text{Cl}$ .....	30
7.3 Absorbance.....	31
7.4 pH.....	31
7.5 Vodivost .....	31
7.6 Respirace .....	31
7.7 Metody měření vsádkových reaktorů .....	32
7.8 Metody měření průtokových reaktorů.....	33
Praktická část – Výsledky a jejich diskuze .....	33
8 Provoz modelu .....	33
9 Výsledky měření na laboratorním modelu .....	35
9.1 Měření vsádkového reaktoru.....	35
9.2 Měření s průtokovými reaktory.....	39
9.3 Výsledné pokrytí biofilmem.....	44
Závěr .....	47
Literatura.....	49

## SEZNAM NEJPOUŽÍVANĚJŠÍCH SYMBOLŮ, ZKRATEK A TERMÍNŮ

NADPH	... nikotinamidadenindinukleotidfosfát
B	... fyzikální veličina magnetické indukce, zde označuje i magnetické pole.
m	... fyzikální veličina označující hmotnost
Q	... fyzikální veličina označující elektrický náboj
E	... fyzikální veličina elektrické indukce, zde označuje i elektrické pole
$\epsilon_0$	... fyzikální veličina označující permitivitu vakua
div	... diferenciální operátor udávající zřídlovost vektorového pole
rot	... matematický operátor definovaný pro vektorové funkce, který v každém bodě funkce udává lokální míru rotace
Hz	... Hertz jednotka frekvence
mT	... mili Tesla jednotka magnetické indukce
g/mol	... gram na mol, jednotka, která udává hmotnost v gramech dané látky na jeden mol
pH	... označuje kyselost, či zásaditost roztoku
mS/cm	... mili siemens na centimetr, jednotka vodivosti, označující míru vodivosti elektrického proudu na jeden centimetr v roztoku.
DC	... Stejnoseměrný zdroj napětí

## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. č. 1 vynutí reaktoru .....	16
Obr. č. 2 rotace vektorů magnetické indukce v čase.....	17
Obr. č. 3 fenol .....	19
Obr. č. 4 bakterie <i>Rhodococcus Erythropolis</i> na vlákne.....	21
Obr. č. 5 reaktor s magnetickým polem .....	26
Obr. č. 6 kontrolní reaktor bez magnetického pole.....	26
Obr. č. 7 jádra reaktorů ze skleněných kádinek, spolu s přívodními hadičkami .....	27
Obr. č. 8 jádro reaktoru pohled z vrchu .....	27
Obr. č. 9 detail nanovlákněné vrstvy ukotvené na niti .....	28
Obr. č. 10 detail nosiče porůstajícího biofilmem a zachycení prvních solných inkrust .....	29
Obr. č. 11 nanovlákněná nit .....	29
Obr. č. 12 měření respirace pomocí multimetru a kyslíkové sondy .....	32
Obr. č. 13 reaktor s magnetickým polem se vsádkovým jádrem .....	34
Obr. č. 14 vlákna s biofilmem.....	46
Obr. č. 15 vyhodnocování hustoty biofilmu .....	46

## SEZNAM GRAFŮ

Graf č. 1 srovnání zdegradovaného fenolu .....	35
Graf č. 2 srovnání absorbance.....	36
Graf č. 3 srovnání koncentrace amoniaků.....	37
Graf č. 4 srovnání pH.....	37
Graf č. 5 srovnání salinity .....	38
Graf č. 6 srovnání objemové respirace .....	38
Graf č. 7 srovnání koncentrací fenolů.....	41
Graf č. 8 srovnání absorbance.....	41
Graf č. 9 srovnání koncentrací amoniaků .....	42
Graf č. 10 srovnání pH.....	43
Graf č. 11 srovnání salinity .....	43
Graf č. 12 průměrné pokrytí biofilmem .....	44
Graf č. 13 kolonizace vlákněného nosiče v čase.....	45

# 1 ÚVOD

Bakalářská práce se zabývá vlivem elektromagnetického pole na mikroorganismy, zejména na bakterii *Rhodococcus Erythropolis*. Zmíněná bakterie je schopná degradovat a rozkládat fenol a využít ho jako jediný zdroj uhlíku a energie, při laboratorní teplotě. Fenol patří mezi problematické polutanty životního prostředí. Jeho odstraňování a likvidace zajímá mnoho laboratoří a vědců, prioritou jeho likvidace je v současnosti na předním místě.

Cílem práce je sledování degradace fenolu populací bakterie *Rhodococcus erythropolis*, za přítomnosti elektromagnetického pole. Elektromagnetické pole ovlivňuje buněčnou membránu a přesun iontů skrze ni. Požadovaný účinek má být ve zlepšení degradace fenolu pomocí ovlivněných bakterií a zkoumání dlouhodobých účinků pole na bakterie.

Metodika práce spočívala v pozorování chování vzorků v elektromagnetickém poli reaktoru a ve vzorku umístěném mimo aktivní pole (kontrolní vzorek). Vzorky měli vždy stejnou počáteční teplotu a koncentraci fenolu, dusičnanů a hodnotu vodivosti.

Úvodní měření byla vsádková, kde byl především hodnocen stav a chování vzorků a samotného reaktoru. Důvodem bylo zhodnocení provozu reaktoru z hlediska dlouhodobé stability elektromagnetického pole a teploty reaktoru.

# TEORETICKÁ ČÁST

## 2 ELEKTROMAGNETICKÉ POLE

### 2.1 PROBLEMATIKA ELEKTROMAGNETICKÉHO POLE

Všechny fyzikální objekty na sebe navzájem působí prostřednictvím různých polí, které vytvářejí. Objekty mají základní vlastnosti: hmotnost „m“, elektrický náboj „Q“ a magnetické pole „B“. Tudíž pole, které tyto objekty vytvářejí, se dají odvodit a vypočítat na základě těchto vlastností. Ze znalosti polohového vektoru, vektoru rychlosti a hodnot gravitačního, elektrického a magnetického pole v místě, kde se fyzikální objekty nachází, můžeme přesně určit stav objektu. [3,5,9]

Pouze pole elektromagnetické a vliv okolních polí lze zanedbat. Elektromagnetické pole se skládá z vektoru intenzity elektrického pole „E“ a vektoru intenzity magnetického pole „B“, popř. vektorových polí elektrické indukce a magnetické indukce. [3,5,9]

#### **Základní vztahy:**

#### **Vztah mezi magnetickým a elektrickým polem:**

$$B = \epsilon_0 \cdot E$$

Veličina  $\epsilon_0$  je permitivita vakua, vyjadřuje vlastnost prostředí, ve kterém se pole nachází.

Působení a propojení složek elektromagnetického pole popisují takzvané Maxwellovy rovnice. Přesněji jsou propojeny soustavou diferenciálních rovnic a operátorů „divergence“ a „rotace“.

$$\text{div}F = (\partial F_x / \partial x + \partial F_y / \partial y + \partial F_z / \partial z)$$

$$\text{rot}F = (\partial F_z / \partial y - \partial F_y / \partial z, \partial F_x / \partial z - \partial F_z / \partial x, \partial F_y / \partial x - \partial F_x / \partial y)$$

[3,5,9]

## Maxwellovy rovnice:

### Gausova věta elektrostatiky

$$\operatorname{div} \mathbf{E} = Q / \varepsilon_0$$

### Neexistence magnetického monopolu

$\operatorname{div} \mathbf{B} = 0$  to znamená, že magnetické siločáry jsou uzavřené.

### zákon elektromagnetické indukce

$\operatorname{rot} \mathbf{E} = -\partial \mathbf{B} / \partial t$  z této rovnice vyplývá, že časově proměnné magnetické pole “B” vytváří rotující elektrické pole “E”.

Elektrické a magnetické pole jsou na sebe navzájem kolmé a mají stejnou periodu. Změna v jednom poli, vyvolá okamžitou změnu v poli druhém, zároveň se obě pole šíří v prostoru rychlostí světla.[3,5,9]

## 2.2 KVAZISTACIONÁRNÍ A TOČIVÉ ELEKTROMAGNETICKÉ POLE

K práci využívám točivého elektromagnetického pole o frekvenci 500Hz. Budu se tedy dále zabývat jen harmonickým časově proměnným elektromagnetickým polem. Takové pole nazýváme kvazistacionární elektromagnetické pole.

Základní vlastnost kvazistacionárního pole je stejná fáze všech bodů ve vyšetřované oblasti, to znamená nekonečnou rychlost šíření elektromagnetického pole. Nutnou podmínkou tohoto fyzikálního modelu je, aby rozměr oblasti byl menší, než vlnová délka elektromagnetického pole (vlny). Mnou zkoumaná oblast frekvence je 500Hz, což nutnou fyzikální podmínku splňuje.

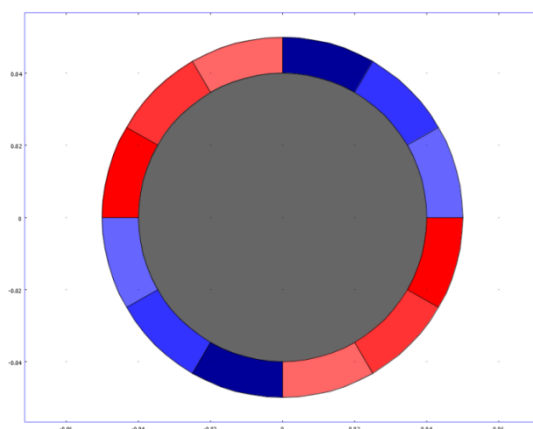
Točivé magnetické pole spojitě mění svůj směr působení ve smyslu otáčivého pohybu kolem určité pevné osy, to znamená, že vektor magnetické indukce “ $\vec{B}$ ” se otáčí kolem pevné osy. Točivé magnetické pole lze tedy vytvořit pomocí minimálně tří vodičů, ve kterých protéká proud s fázovým posuvem 120°. [3,5,9]

## 2.3 REAKTOR S TOČIVÝM MAGNETICKÝM POLEM

Mezi třemi vodiči umístěnými v rovině do rovnostranného trojúhelníku, vznikne uprostřed mezi vodiči točivé magnetické pole, jehož konec vektoru vytváří kružnici. Pole je výsledkem superpozice fázově posunutých časově proměnných magnetických polí, vzniklých ve všech třech vodičích v obvodu. V našem reaktoru se místo vodičů využívá třiceti navinutých cívek, umístěných okolo kruhu symetricky. Jako těleso a aktivní část reaktoru je použit asynchronní motor bez kotvy nakrátko. Touto úpravou výrazně klesne indukčnost, taktéž se sníží impedance, a tedy je nutno snížit napětí cívek.[12]

Reaktor je napájen frekvenčním měničem, pomocí kterého lze libovolně měnit frekvenci v rozsahu 10 Hz až 650Hz a napětí samotných cívek. Ampérmetr v obvodu slouží pro kontrolu proudu, tedy aby nebyla překročena maximální, limitní hodnota proudu ve vinutí cívek. Lepšího chlazení a zároveň chlazení na příslušnou teplotu jádra reaktoru, tedy zkoumaného vzorku, je docíleno pomocí externích větráků napájených DC zdrojem. [12]

Na následujícím obrázku je barevně vyobrazeno zapojení vinutí s kruhovou symetrií. Je to zvoleno tak, aby vektory magnetické indukce uvnitř reaktoru vytvářely kružnici. Sytost barev nám znázorňuje fázový posun proudu ve vinutí. Červená a modrá barva vyjadřuje polaritu proudu v cívce.[12]

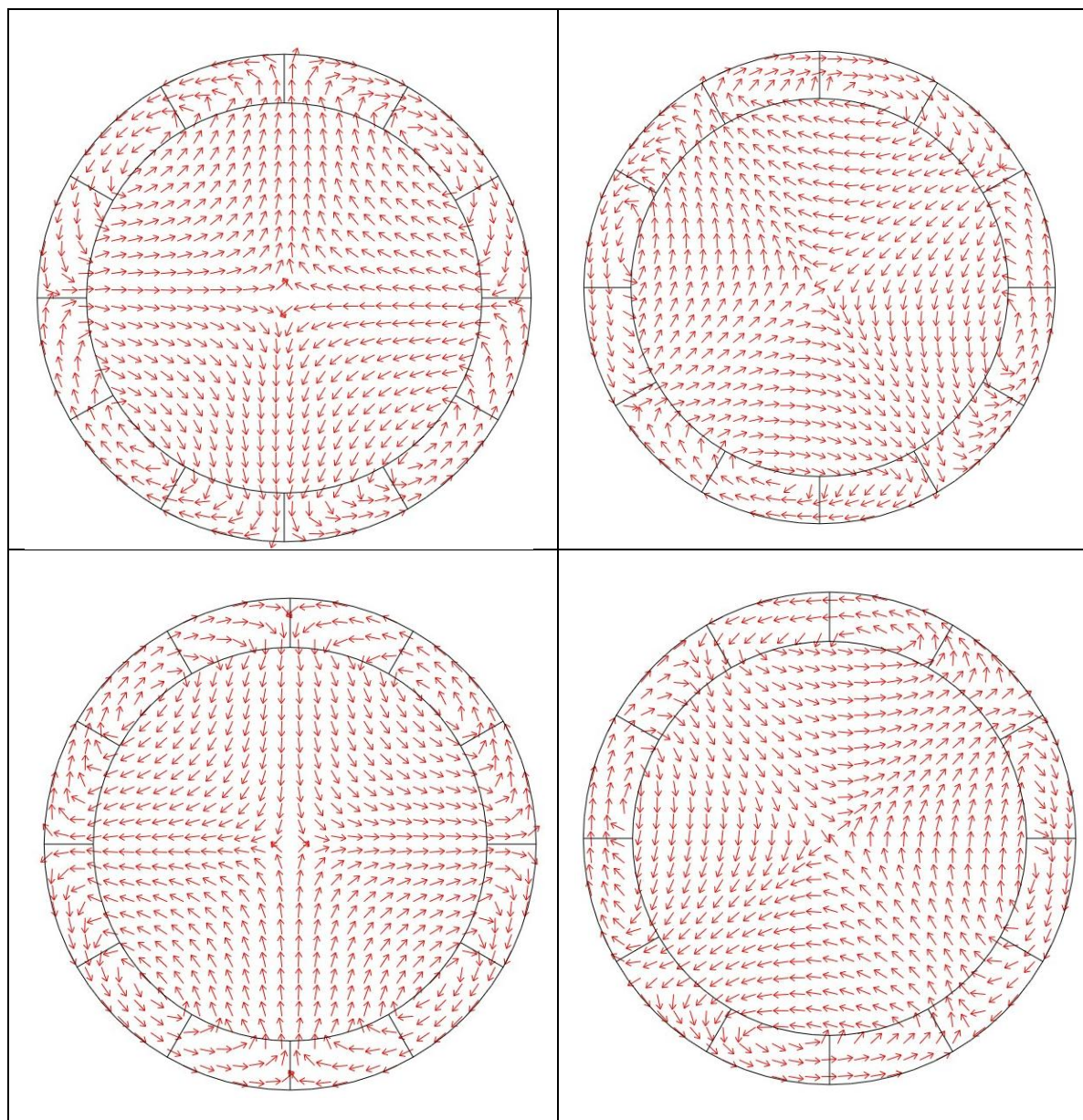


Obr. č. 1 vynutí reaktoru

Magnetická indukce těsně u hrany pólového nástavce dosahuje 20 mT efektivní hodnoty při frekvenci 500Hz. Cílem práce je zjištění frekvence magnetické indukce na růst mikroorganismu.[12]



Následující simulace nám ukazuje rozložení vektorového pole magnetické indukce v reaktoru ve čtyřech časových okamžicích. Rychlost otáčení vektorů magnetické indukce je dána frekvencí budicího proudu. [12]



Obr. č. 2 rotace vektorů magnetické indukce v čase

## 2.4 ELEKTROMAGNETICKÁ POLE A MIKROORGANISMY

Živá tkáň má podobnou permitivitu jako vzduch, tak se magnetické pole ve tkáni nemění, či lze tuto změnu zanedbat a magnetické siločáry mají stejný směrový vektor (směr). Touto problematikou se též zabývá impedanční spektroskopie. [4,10,11]

Důležitou vlastností živé hmoty je hystereze, vyvolávaná časem, který potřebuje k odezvě na působení pole. Je sice známa i u látek neorganického původu, ale u živých tkání a objektů existuje hystereze dlouhodobá, kterou neorganické látky nejeví. Další charakteristická vlastnost organické hmoty je nestálost všech vlastností, jednak přirozená, daná jejich vývojem, životem, jednak vyvolaná působením vnějších činitelů, ku příkladu světla, tepla a přítomnosti cizích látek. [4,10,11]

Elektromagnetické pole ovlivňuje nabitě částice, tedy ionty. Na základě experimentů a pokusů bylo zjištěno, že elektromagnetické pole má vliv na distribuci iontů v organizmech. Příkladem může být odbourávání odpadních látek iontové povahy v organismu. Organismus, který je pod vlivem elektromagnetickým polem rychleji odbourává a vylučuje tyto látky. Neboli elektromagnetické pole má vliv na usazování volných iontů k molekulám organismu. Tudíž musíme brát zřetel, že pole působí především na fyzikální vlastnosti hmoty a ne přímo na samotný organismus. Iontové přesuny se uskutečňují na fázových rozhraních, neboli na membránovém systému buněk. Změny v přesunu iontů jsou důležitým faktorem, který ovlivňuje různé funkce buňky. [4,10]

### **Fyzika elektromagnetického pole v organismu:**

Časová změna toku magnetického pole v tkáni indukuje proud:

$$\text{rot } \mathbf{E} = -\partial \mathbf{B} / \partial t \quad \text{a zároveň platí :} \quad \mathbf{j} = \sigma \cdot \mathbf{E}$$

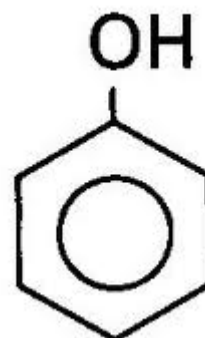
tudíž v organické hmotě bude indukovaný elektrický proud mít záporný směr k vektoru magnetického pole. [10]

### 3 BIOLOGICKÁ ODBOURÁVÁNÍ FENOLU

#### 3.1 FENOL

##### Vlastnosti:

Molární hmotnost	94,11 g/mol
Teplota tání	40,5 °C
Teplota varu	181,7 °C
Hustota	1,07 g/cm <sup>3</sup>
Rozpustnost ve vodě	8,3 g/100 ml (20 °C)



Obr. č. 3fenol

Fenol neboli kyselina karbolová, je jedovatá bezbarvá krystalická pevná látka, sladkého dehtového zápachu, často označovaného jako "vůně nemocnice". Chemický vzorec fenolu je  $C_6H_5OH$  a jeho molekula obsahuje hydroxylovou funkční skupinu ( $-OH$ ) vázanou na benzenové jádro, jde tedy o aromatickou sloučeninu. [11]

Fenol se omezeně rozpouští ve vodě. Za běžné teploty je voda s fenolem nemísitelná, oddělují se fáze roztoku vody ve fenolu (těžší) a roztoku fenolu ve vodě (lehčí). Při teplotách nad 68,8 °C je fenol s vodou mísitelný v každém poměru. Molekula fenolu má mírnou tendenci odštěpovat iont  $H^+$  z hydroxylové skupiny, čímž vzniká ve vodě velmi rozpustný fenoxidový (též fenolátový) anion  $C_6H_5O^-$ . V porovnání s alifatickými alkoholy je fenol mnohem kyslejší; dokonce ve vodném roztoku reaguje s  $NaOH$  za ztráty  $H^+$ , kdežto alifatické alkoholy nikoli. [11]

Fenoly a jejich deriváty jsou široce rozšířené přírodní látky, které jsou produkovány celou řadou rostlin, živočichů, ale i člověkem. Právě tyto přirozené deriváty fenolu zapříčiňují chuť a barvu mnohých poživatin. [11,17]

Fenoly připravené umělou cestou v továrnách a jejich deriváty mohou mít díky svým vlastnostem negativní vliv na životní prostředí. Díky nízké těkavosti fenolu většina kontaminace směřuje do vody nebo půdy. Nechlorované deriváty fenolu jsou v prostředí s dostatečným provzdušněním a přístupem kyslíku rozkládány mikroorganismy na neškodné produkty. Při nedostatku vzduchu, například ve skládkách, sedimentech či v podzemních vodách, jsou stabilnější a není jednoduché je odbourat, či zpracovat. [11,17]

Fenoly jsou toxické jak pro vodní živočichy, tak i pro ostatní faunu obývající souš. Velmi vysokým rizikem pro organizmy jsou deriváty fenolu, hlavně tedy chlorfenoly, které jsou bioakumulativní, vysoce stabilní a toxické. Tyto deriváty mohou představovat vážná rizika v zamořených oblastech, i když nejsou příliš těžké. V některých studiích se objevují zprávy, že páry těchto derivátů mohou vytvářet spolu s dalšími polutanty škodlivý přízemní fotochemický smog. Ten se vytváří při reakci par polutantů spolu s UV zářením, vznikají zde i volné radikály.

Tento smog ohrožuje zdraví obyvatelstva a zvířat, zemědělské plodiny a i některé stavební materiály, které může degradovat. Kumulace v půdě je jen další špatnou vlastností, kterou tyto látky mají. [11,14,15,17]

Do prostředí se fenol dostává mnoha způsoby a to při rozkladu organických zbytků či lesních požárech. Ovšem většina má průmyslový původ. Využití nachází při: výrobě materiálů pro automobilový průmysl, výrobě barev. Nebo se fenoly používají jako dezinfekční látka díky své toxicitě k plísním a bakteriím. Možné další úniky z chemického průmyslu mohou nastat při desinfekci vodních potrubních v továrních prostorech či aplikací fenolu do produktu, např. Fenolové pryskyřice a umělá vlákna. Dále jsou možné kontaminace vody z nátěrů obsahujících fenoly a jejich deriváty, nebo při spalovacím procesu, například ze spalovacích motorů. [11,14,15,17]

Fenoly se dají odbourávat jak chemicky, tak biologicky (pomocí bakterií). Ovšem velmi efektivním a ekonomicky výhodným řešením pro jejich odstranění je právě využití mikroorganismů. Schopnost některých mikroorganismů odbourávat, či využívat neobvyklé, často toxické, substráty je dána přítomností příslušných metabolických drah a enzymů. [11,14,15,17]

### 3.2 BAKTERIE RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS

V současné době je známo mnoho mikroorganismů, které jsou schopny využívat fenol jako jediný zdroj uhlíku a energie. Především se zaměřím na bakterii *Rhodococcus Erythropolis*, která je využívána v laboratořích Technické univerzity v Liberci. [6,17,18]



Obr. č. 4 bakterie *Rhodococcus Erythropolis* na vlákně

Bakterie má tvar krátké i delší tyčky s náznaky větvení. Netvoří vzdušné podhoubí a dělí se do vláken na nepravidelné tyčky a koky. Jsou nepohyblivé, aerobní a hydrofobní. Jejich způsob výživy je chemoorganotrofní. Optimální teplota růstu se pohybuje mezi 30 – 37°C, záleží na konkrétní populaci. Velikost buněk je zhruba mezi 0,5 – 1 μm šířky až 5 – 20 μm délky. Jsou acidorezistentní vůči slabým kyselinám. Vyskytují se v půdě a vodě. [6,17,18]

*Rhodococcus erythropolis* rostoucí v biofilmu je účinným nástrojem pro biodegradaci fenolu. Bakterie má značně hydrofobní povrch a dobře přirůstají k hydrofobním materiálům. Při použití takového materiálu pro nosiče biofilmu, dochází k vytvoření stabilnějšího biofilmu, než na nosičích z materiálu hydrofilního. To se projeví i ve schopnosti degradace fenolu. Rychlost biodegradace fenolu je vyšší v systému s biofilmem na hydrofobních nosičích. [6,13,17,18]

### 3.3 BAKTERIÁLNÍ RŮST

Růst bakteriální populace je mnohonásobné množení bakteriální buňky metodou binárního dělení za vzniku dvou nových jedinců, které se opakuje, dokud není vyčerpáno množství živin v prostředí či se jinak nezmění podmínky. Toto množení má určité zákonitosti. [6,7]

Růst organismů je maximální, když k němu mají optimální podmínky. Podmínky se liší dle typu organismu, živného média, ale i způsobu kultivace. Rychlost růstu je tak dána schopnostmi mikroorganismů a také faktory prostředí. Hlavními faktory prostředí jsou doba zdržení biomasy a odpadní vody, koncentrace přiváděného substrátu, obsah živin, rozpuštěný kyslík, teplota a pH. Pokud má přiváděný substrát s organickým znečištěním sloužit jako zdroj živin a energie pro růst mikroorganismů, je nezbytné sledovat koncentraci živného média, v našem případě měřením chemické spotřeby kyslíku (CHSK). Růstová rychlost je ovlivněna změnami faktorů prostředí a není tak v průběhu konstantní. [6,7]

### 3.4 BIOFILM

Formování biofilmu začíná přichycováním volně se pohybujících bakterií k podkladu. První bakterie se přichytí k povrchu velmi slabými silami, které nejsou chemického původu. Pokud nedojde k jejich okamžitému oddělení od povrchu, začnou vytvářet silnější spojení s povrchem pomocí aktivních molekul bílkovin, polysacharidů, které mají na svém těle. První „kolonisté“ vytváří polymerní lepivou matrici, která je organizována do pavučinovitých vláken, obklopuje buňky dokola, tím usnadňuje přichycování dalších bakterií. Z matrice se vytváří lešení, ve kterém se buňky množí, tím vytváří mikrokolonie. Buňky jsou schopny se z matrice oddělit, odplout a kolonizovat tak další část povrchu. [6][7][8]

### 3.5 BIODEGRADACE FENOLU

Biodegradace organických látek pomocí mikroorganismů, je úměrná jejich růstu. Organismy poutané do biofilmové matrici mají vyšší odolnost k okolním podmínkám, tedy i vyšší či stabilnější biodegradaci. Navíc forma biofilmu je schopna soustředit větší množství biomasy než volné rozptýlená forma mikroorganismů. Rychlost biodegradace organických látek pomocí mikroorganismů ovlivňuje teplota systému. Mikrobiální aktivita stoupá s rostoucí teplotou, zvýšení teploty tedy může zrychlit degradační procesy. Extrémní teplota může způsobit pokles růstu mikroorganismů, neboť ku příkladu dochází ke snižování rozpustnosti kyslíku. Z těchto důvodů se procesy biodegradace realizují v teplotně kontrolovatelném zařízení. Vliv teploty se projevuje i v nebiologických mechanismech, neboli anorganických chemických reakcích. Při vyšší teplotě se také ze systému též rychleji odpařuje voda, což způsobuje zvyšování koncentrací všech látek v systému a krystalizaci solí. [6,7,8]

Hodnota pH ovlivňuje aktivitu mikroorganismů a tím rychlost procesu biodegradace. Optimální hodnoty pH se pro většinu bakterií pohybují od 6 do 8. Optimální hodnota pH je však dána užitým bakteriálním rodem, podmínkami v reaktoru a složením odpadní vody. Velmi vysoké (pH 10 a více), či naopak nízké hodnoty pH (pH 5 a méně) velmi nepříznivě ovlivňují mikroorganismy a tedy biodegradaci. Mikroorganismy za těchto extrémních hodnot jsou inhibovány, nebo zahubeny. [6,7,8]

#### **Degradace fenolu pomocí bakterie:**

Při degradaci fenolu dochází k jeho přeměně na katechol. Tato reakce je katalyzována enzymem fenolhydroxylasou. Fenolhydroxylasa je enzym, který patří mezi NADPH\* dependentní monooxygenasy (enzymy ze skupiny oxidoreduktáz katalyzující vstup jednoho atomu molekulárního kyslíku do substrátu) a tedy využívá kyslík k iniciaci oxidace substrátu za přítomnosti NADPH\* jako donoru elektronu. [13,14,15]

\*NADPH–nikotinamidadenin dinukleotidfosfát

## 4 REŠERŽE VLIV STATICKÉHO A KVAZISTACIONÁRNÍHO MAGNETICKÉHO POLE NA MIKROORGANIZMY

Studií a literatury zabývající se vlivem magnetických polí na organizmy je mnoho, ovšem s rozličnými výsledky. V práci použijeme pouze zdroje, které zkoumaly mikroorganizmy v podobě bakterií. Z vybraných studií můžeme usoudit, že různé magnetické pole (stacionární, točivé, jejich intenzita a jiné) mají různý vliv. Vliv magnetického pole na bakterie ovlivňuje i médium, ve kterém jsou bakterie obsaženy. [28]

Experimenty na bakteriích *Escherichia coli*, *Paracoccus denitrificans*, *Leclercia ad-carboxylata* a *Staphylococcus aureus*, jsou částečně podobné experimentu, kterým se zabýváme. Intenzita kvazistacionárního magnetického pole v těchto experimentech je kolem 10 mT a jeho frekvence činí 50 Hz. Doba vystavení bakterií magnetickému poli je různá a to od 12 minut do dvou hodin. Z výsledků těchto studií, které probíhali od roku 2001 do roku 2009, autoři přišli na několik závěrů a to, že toto pole zabíjí bakterie *E. Coli* a obdobné účinky má i pro ostatní zkoušené bakterie. Zkoumané bakterie reagují na pole stejnou cestou, ovšem rozdílem je síla reakce na pole. Ku příkladu nejrychleji hynuly *E. Coli* a nejvíce rezistentní byli *S. aureus*. Tyto experimenty se bohužel nezajímaly, jakým způsobem kvazistacionární elektromagnetické pole zmíněné bakterie zabíjí, či zpomaluje jejich biologické procesy. Zároveň z těchto studií vyplývá, že gram-pozitivita/negativita bakterií má vliv na jejich rezistivitu proti poli. [25,26,27]

Studie, kdy bakterii, konkrétně *E. Coli*, vystavili statickému magnetickému poli o intenzitě 50mT, potvrzuje inhibici buněk a zároveň ukazuje, že největší vliv má pole při jejich optimální teplotě růstu (37°C). [29]

Vědci z Turecka zkoumali vliv magnetického pole na bakteriální růst a degradaci odpadní vody obsahující glukózu a fenol. Sérií laboratorních testů zjistili, že při optimálním pH 7,5 a intenzitě magnetického pole 17,8 mT bakterie zpracovávají glukózu o 44% rychleji a degradace fenolu se zvýšila o 30%. Což je značné urychlení rozkladu fenolů. Taktéž u této studie zjistili, že pole pod 9 mT nemá téměř žádný vliv a naopak pole silnější než 45 mT už má nepříznivý vliv na bakteriální růst, který tak zpomaluje. [30]



# PRAKTICKÁ ČÁST-MATERIÁLY A METODY

## 5 LABORATORNÍ MODEL

Těleso reaktoru připravil a sestavil Ing. Martin Truhlář, Ph.D, Ústav mechatroniky a technické informatiky, FM, TUL. Ovšem jádro pro testování vzorků jsem musel zhotovit dle propozic reaktoru. Jako materiál jsem zvolil sklo, přesněji laboratorní kádinky. Využil jsem 150 ml kádinku, do které byla umístěna další kádinka o objemu 75 ml, která byla zafixována pomocí nástavců na automatickou pipetu. Důvodem toho tvaru bylo, aby vzorek byl v těsné blízkosti aktivního pole, emitovaného reaktorem a také to, že reaktor nesměl přijít do kontaktu s vodou, proto se zvolil bezkontaktní způsob vystavení mikroorganismů elektromagnetickému poli. Objem tohoto jádra byl 40 ml.

Z důvodů co nejpresnějšího měření, jsem sestavil stejné jádro i pro vzorek umístěný mimo aktivní pole (vzorek kontrolní). Dalším krokem bylo srovnání teplot vzorku v reaktoru dále jen „M“ (vzorek v kontaktu magnetického pole) a vzorkem mimo pole, vzorek kontrolní, takzvaným „kontrolním reaktorem“, dále jen „S“. V reaktoru je teplota vzorku M na hodnotě 30 – 35 °C, laboratorní teplota je zhruba 20 °C, tudíž byl vzorek S umístěn do ohřevné vany se stejnou teplotou. Díky přesné regulaci na topné vaničce, jsou teploty vzorků totožné.

Pomocí čerpadla značky Watson Marlow, byl zkoumaný roztok vody, fenolu a bakterií v uzavřeném okruhu přečerpáván z reaktoru a zpět do nádržky. Průtoky byly nastavovány v rozmezí 50 až 340 ml za hodinu. Nádržkou byla kádinka o objemu 800 ml, s horním krytem z důvodu snížení objemu odpařené vody. Nanovláknový nosič byl umístěn v nádržce, která obsahovala 300 ml roztoku.

Reaktory i vnější nádrže byly okysličovány pomocí provzdušňovacího zařízení, které taktéž plnilo funkci míchadla. Rovnoměrné promíchávání je důležité pro efektivní přísun potřebných látek a kyslíku, taktéž pro migraci volně pohybujících se bakterií v roztoku, kdy pomocí čerpadla jsou přečerpávány neusazené bakterie do reaktoru.

Kontrola systému probíhá pomocí sond (pH, koncentrace rozpuštěného kyslíku, teplota, vodivost) připojovaných k měřicímu přístroji WTW Multi 350i, dále pomocí kyvetových testů (amoniak a fenol) a měření absorbance roztoku.

## Pracoviště s modely reaktorů

Obrázek první je model s elektromagnetickým polem, druhý obrázek je kontrolní reaktor.



Obr. č. 5 reaktor s magnetickým polem



Obr. č. 6 kontrolní reaktor bez magnetického pole

## Jádra



Obr. č. 7 jádra reaktorů ze skleněných kádinek, spolu s přívodními hadičkami

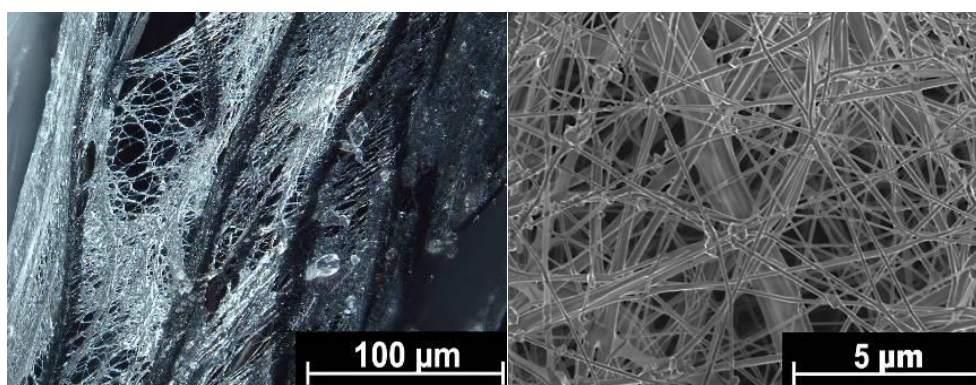


Obr. č. 8 jádro reaktoru pohled z vrchu



## 6 NOSIČ BIOFILMU

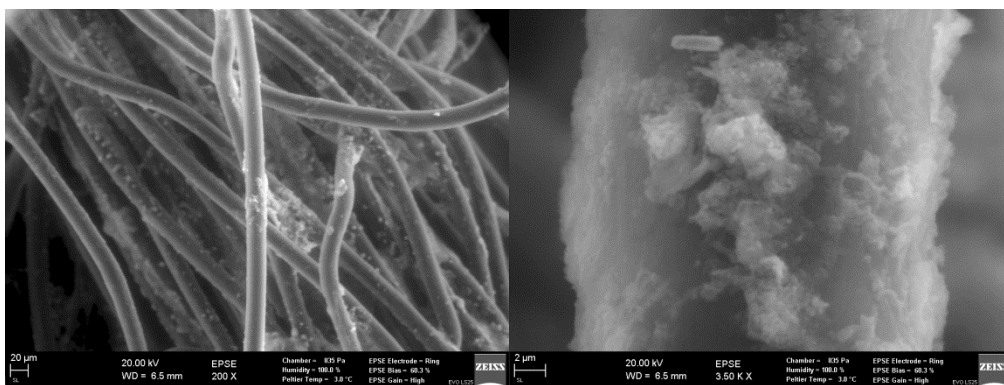
Před pěti lety byl na Technické univerzitě v Liberci (TUL) zahájen vývoj nového typu nosiče biomasy, který je založen na využití polymerních nanovláknenných materiálů. Nanomateriály poskytují řadu výhod, především velký měrný povrch a optimální morfologii povrchu. Základem nosičů jsou nanovláknenné vrstvy získané metodou elektrospinning. Nanovláknenné vrstvy jsou na nosné vlákno aplikovány v zařízení Nanospider<sup>TM</sup>, což je unikátní patentovaná technologie zvlákňování z volné hladiny roztoku (nebo taveniny) polymeru v silném elektrostatickém poli bez použití trysek (výrobnost technologie Nanospider<sup>TM</sup> se pohybuje mezi 1 až 5 g/min.m). Princip je známý ve své podstatě od roku 1910. Roztok je dávkovacím zařízením vytlačen z trysky, která je zároveň jednou z elektrod elektrostatického pole. Působením elektrostatického pole dochází k vytažení vláknenného útvaru směrem k opačné elektrodě a následnému rozštěpení na jemná vlákna. Měrný povrch těchto vláken je natolik velký, že ještě před dopadem na opačnou elektrodu jsou vlákna vysušena. Aplikace nanovláknenných vrstev na nosné vlákno probíhala v laboratořích TUL, na fakultě textilní. [13, 20, 21, 22, 23, 24]



Obr. č. 9 detail nanovláknenné vrstvy ukotvené na niti [13]

### 6.1 VÝJIMEČNÉ VLASTNOSTI NANOVLÁKENNÝCH NOSIČŮ

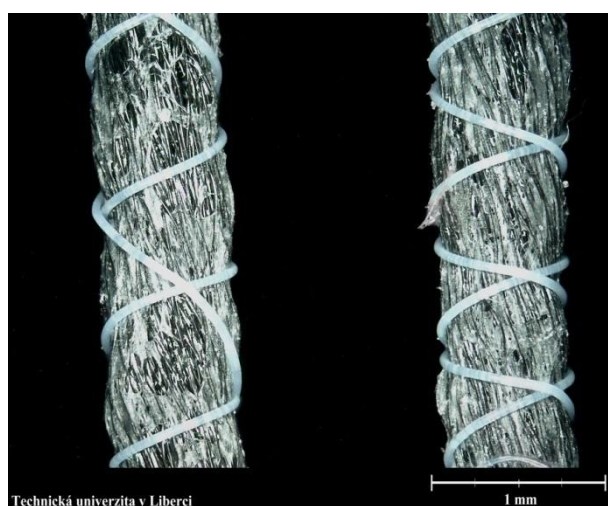
Nanovláknna jsou užita pro jejich vysoký měrný povrch, bakteriím to umožňuje vysokou adhezivitu k povrchu nosiče, což v důsledku zjednodušuje imobilizaci bakterií, zejména v úvodních fázích kolonizace, případně také během náročných havarijních stavů. Nanovláknenná technologie umožňuje rychlejší zpracování nosiče a tím také zkrácení potřebné doby regenerace systému. Díky morfologii povrchu (velká pórovitost a malé rozměry pórů) je výsledná struktura biofilmu více stabilní, což reálně zajišťuje stabilnější biodegradaci. Biofilm na tomto nosiči má vyšší schopnost adaptace k extrémním podmínkám, a dokonce dochází ke snížení vlivu skokových změn podmínek v systému (jako extrémní teplota, salinita aj.). [13,]



Obr. č. 10 detail nosiče porůstajícího biofilmem a zachycení prvních solných inkrust [13]

## 6.2 CHARAKTERIZACE NANOVLÁKENNÉHO NOSIČE

Nanovlákná a z nich připravené nanotextilie představují prudce se rozvíjející odvětví materiálového průmyslu. Tyto kompozitní materiály mají velký aktivní povrch při nízké specifické hmotnosti a jsou velmi vhodné pro přípravu modifikovaných nosičů přirozených biofilmů cíleně připravených pro specificky znečištěné odpadní vody, ale i pro intenzifikaci klasických čistírenských technologií. Konstrukce nosičů biomasy je zcela zásadní pro dosažení maximální účinnosti čistírenských procesů, přičemž kromě speciálního tvaru jsou důležité materiálové charakteristiky nosičů. [13,]



Obr. č. 11 nanovláknenná nit [13]

## 6.3 NANOVLÁKENNÁ NIT

Nanovláknenná příze je finálně složena ze tří částí. Základní vlákno je polypropylen Prolenvir CE (660 dtex, tvarovaný vzduchem), povlak se skládá z polyuretanových nanovláken Larithane 1083 (50 – 150 dtex, metoda electrospinning, průměr nanovláken je cca. 260 nm), vše je dvojitě obtočeno ochranným polyetylenovým vláknem (167 dtex, chrání vůči tření při zpracování a při následných aplikacích proti dezintegraci nanovláken). Specifický povrch výsledného útvaru (obr. 11) s polyuretanovými nanovláknem s hodnotou 50 dtex má pro daný návrh konstrukčního řešení pro fixní lože až tisíce  $\text{m}^2/\text{m}^3$ . Výslednou přízi je možno zpracovávat textilními technologiemi ve formě sférických smotků (pro použití ve fluidním loži) nebo ve formě plošných útvarů (technologie proplétání s vloženým útkem, pro použití ve fixním loži). [13]

## 7 UŽITÉ METODY MĚŘENÍ

### 7.1 STANOVENÍ FENOLU

Měření fenolů bylo prováděno pomocí takzvaných kyvetových testů. Jsou rovnocennou alternativou časově náročným referenčním metodám. Využity byly kyvetové testy firmy HachLange (LCK 345). Fenoly reagují s 4-nitroanilinem za vzniku žlutého komplexu, který se pak měří ve fotometru.

### 7.2 AMONIAKY $\text{NH}_4\text{Cl}$

Koncentrace amoniaku  $\text{NH}_4\text{Cl}$  byla stanovena také pomocí kyvetových testů od firmy HachLange (LCK 304). V průběhu reakce v kyvetě reaguje amonný iont s chlornanem a salicylanem za katalýzy nitroprusidu na indofenolovou modř.

Obecně je dusík obsažen v živých organizmech a je důležitou součástí různých molekul v buňkách a organizmech. Amoniačky  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , které sledujeme v experimentu, jsou živiny pro bakterie, které je využívají pro růst. Měřením koncentrace amonných sloučenin v pozorovaném roztoku, zjišťujeme spotřebu živin v systému. Tedy to, jaký má elektromagnetické pole vliv na bakterie a jejich spotřebu přítomných živin.

### 7.3 ABSORBANCE

Absorbance neboli optická denzita, odráží stav bakteriálního růstu v roztoku. Rychlost růstu bakterií a jejich reakci na změny v prostředí lze pozorovat zakalením roztoku. Stanovení zákalu (množství bakterií) bylo stanovováno pomocí spektrofotometru DR-2800 firmy Hach-Lange. Při spektrofotometrii se měří množství absorbovaného světla zakaleným roztokem. Měření koncentrace bakterií bylo prováděno při vlnové délce 420 nm oproti nulovému roztoku. Nulovací roztok byla destilovaná voda ve skleněné kyvetě o rozměrech 1x1 cm.[19]

### 7.4 pH

Pro měření pH v prostředí bioreaktorů byla užita kombinovaná skleněná elektroda, která je díky vlastnostem svého povrchu citlivá vůči vodíkovým iontům. Vnitřní náplň je tvořena pufrům s pH hodnotou 7. Jako referenční elektroda je užita argentschloridová srovnávací elektroda. Ponor sondy vyvolává změnu potenciálu na měřicí elektrodě v porovnání s referenční elektrodou. Sonda byla připojena k vyhodnocovacímu zařízení, které přepočítává změnu napětíového signálu na hodnotu pH. [19]

### 7.5 VODIVOST

Vodivost je měřena metodou založenou na elektrochemickém měření odporu. Prostředkem měření je dvuelektrodová vodivostní platinová elektroda v ochranném plastovém pouzdře. Sonda měří odpor protékající vody tak, že elektrodami prochází střídavé napětí a tím způsobuje na elektrodách uspořádaný pohyb iontů. Čím větší je množství iontů v roztoku, tím větší proud protéká mezi elektrodami. Vyhodnocovací přístroj nejprve vypočte vodivost roztoku mezi elektrodami a posléze hodnotu měrné vodivosti v jednotkách mS/cm. [19]

### 7.6 RESPIRACE

Měřením respirace je určena aktivita mikroorganismů. Respirace stanoví nároky mikroorganismů na množství kyslíku rozpuštěného ve vodě. Měření respirace je prováděno v respirometrické cele, kde je zabráněno přístupu kyslíku k hladině měřeného roztoku. Roztok je nasycen kyslíkem na hodnotu přibližně 8mg/l. Při měření v uzavřené cele se spotřebovává kyslík, průběh spotřeby je zaznamenáván měřicím přístrojem WTW Multi 350i.[13]



Obr. č. 12 měření respirace pomocí multimetru a kyslíkové sondy

## 7.7 METODY MĚŘENÍ VSÁDKOVÝCH REAKTORŮ

Dávkování fenolu probíhalo každý den dle spotřeby a všechny koncentrace byly zaznamenány. První den postačila základní koncentrace okolo 300 mg/l. Druhý den ráno se dávkována koncentrace 300 mg/l do reaktoru. Podle spotřeby se odpoledne dávkovalo dalších 300 mg/l. Třetí den byl dávkován násobek základní dávky (600 mg/l), v průběhu dne se dávkovala do vzorku kontrolního a vzorku vystaveného různým frekvencím dvojnásobná dávka (600mg/l. Čtvrtý den měření probíhá obdobně jako den předchozí, ovšem s tím rozdílem, že odpoledne je třeba dávkovat trojnásobnou dávku fenolu (kontrolní vzorek a vzorek s proměnlivou frekvencí. Při nedodržení dávkování fenolu většinou bakterie přes noc zpracují všechn fenol, tím pádem začnou hynout a vzniká tak chyba měření.

Měření absorbance probíhalo denně. Výchyly u vzorku s proměnlivou frekvencí, kdy absorbance výrazně poklesne, je dána tím, že bakterie zpracovaly nadávkovaný fenol a začaly hynout. Při nadávkování nové koncentrace fenolu se absorbance znovu rychle zvýšila oproti kontrolnímu vzorku. Rychlost zvyšování absorbance je větší než u kontrolního vzorku. Množství bakterií, které nám absorbance udává, potvrzují i testy KTJ.



Z dlouhodobých měření jsme zjistili, že hodnota absorbance ve vzorku s proměnlivou frekvencí stále rychle narůstá. Pro potvrzení a kontrolu měření, jsme obsahy reaktorů naočkovali do reaktoru s větším objemem reaktoru. 40 ml roztoku z reaktoru jsme nadávkovali do 500ml, byl přidán fenol o koncentraci 1200 mg/l (v obsahu celého reaktoru) a živiny. Tato dávka byla vypočítána na 72h běhu reaktoru. Po 72 hodinách byla měřena absorbance, která potvrzovala předešlý růst.

U vzorku s proměnlivou frekvencí magnetického pole byla pozorována zvýšená biologická aktivita bakterií, na kterou poukazuje následující: při poklesu koncentrace fenolu na nulu, vždy následoval okamžitý pokles absorbance, u ostatních vzorků (kontrolních) byl pozvolný. Výsledky z měření respirace korespondují s výsledky absorbance vzorků.

## 7.8 METODY MĚŘENÍ PRŮTOKOVÝCH REAKTORŮ

Experimenty zaměřené na různý objemový průtok skrze kontaktor reaktoru (jádro), byly prováděny při frekvenci kvazistacionárního pole 500 Hz. Měření charakteristik reaktoru (koncentrace fenolů, amoniaků, pH atd.) probíhalo semi-kontinuálně. Každý den byly změřeny dvě až tři hodnoty v intervalu 2 hodin.

# PRAKTICKÁ ČÁST – VÝSLEDKY A JEJICH DISKUZE

## 8 PROVOZ MODELU

Modely hybridních bioreaktorů jsou provozovány kontinuální kultivací. Na počátku experimentu je namíchána jedna směs roztoku o celkovém objemu 0,7 l, obsahující bakterie, jejichž hodnota absorbance je vždy přibližně 0.3, fenoly o koncentraci 300 mg/l a pH 7. Hodnoty vodivosti byly uměle upravovány na specifické hodnoty a to dosolením pomocí čisté NaCl. Koncentrace amoniaků byly vždy při počátku experimentu změřeny. Roztok byl po změření a zaznamenání všech vstupních hodnot rozdělen do dvou reaktorů (M, S) rovnoměrně po 350 ml.

Provoz vždy probíhal kontinuálně po dobu tří až pěti dnů. V průběhu experimentu byly měřeny hodnoty všech zmíněných veličin. Při poklesu koncentrace fenolu byl tento polutant doplněn zpět na hodnotu přibližně 300 mg/l. Nedostatečná koncentrace fenolu v roztoku vedla vždy k poklesu absorbance, neboli k úhynu bakterií, které se tímto polutantem živí.

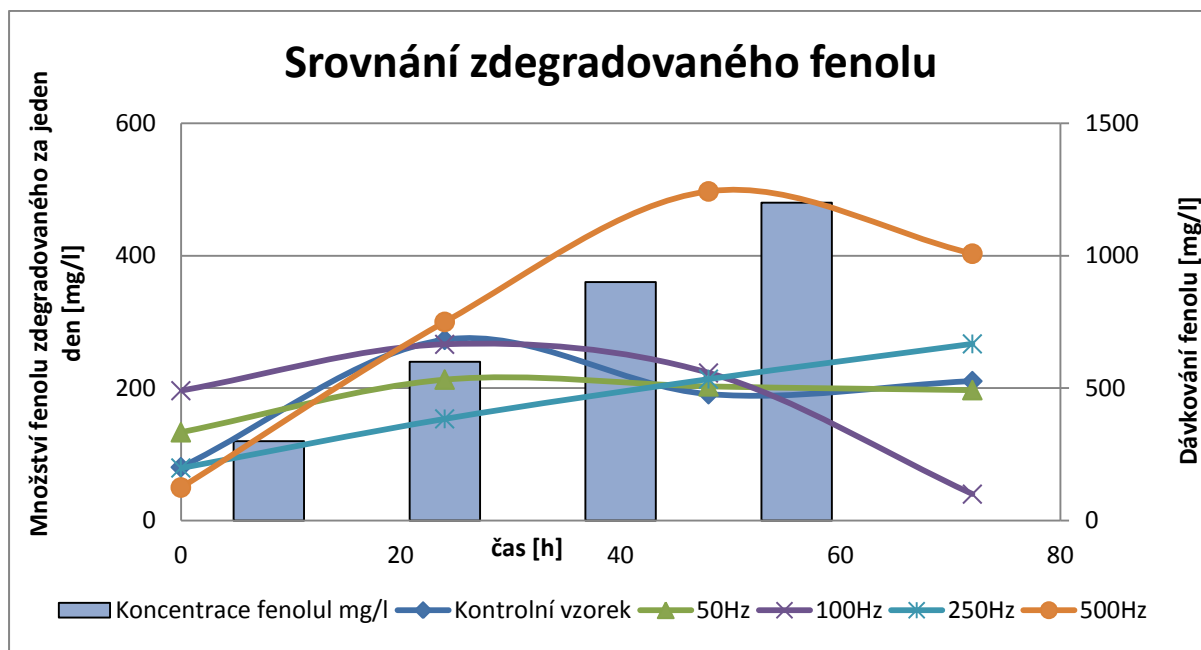
Prvních několik měření v laboratoři na mé práci, udávalo lepší výsledky degradace fenolu ve vzorku vloženého do aktivního pole reaktoru, než u vzorku mimo pole. Ovšem první měření přineslo spoustu nových informací a problém, jež bylo potřeba vyřešit. Především šlo o zvýšení teploty ve vzorku umístěném v reaktoru, které bylo dané vysokým vyzařováním tepla ze samotného tělesa reaktoru. Tudíž bylo potřeba snížit teplotu vzorku pomocí vnějšího chlazení a srovnat jí s teplotou vzorku druhého. Srovnání teploty bylo provedeno pomocí tří větráčků do počítače s průměrem 12 cm. Byly uchyceny na konstrukci z merkurů a napájeny pomocí stejnosměrného DC zdroje. Zapojení umožňovalo zapnout libovolně větráčky dle libosti, mohli být aktivní tři, dva, nebo jeden. Umístěny byly okolo reaktoru do tvaru „U“.



**Obr. č. 13 reaktor s magnetickým polem se vsádkovým jádrem**

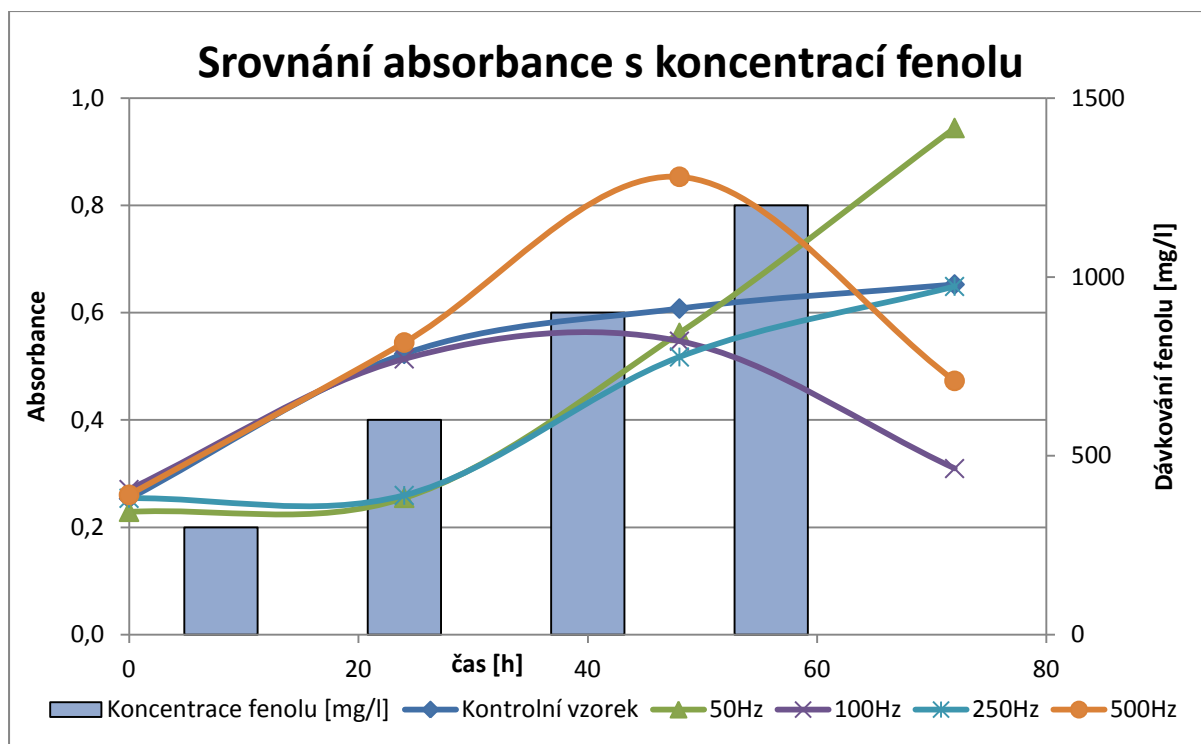
## 9 VÝSLEDKY MĚŘENÍ NA LABORATORNÍM MODELU

### 9.1 MĚŘENÍ VSÁDKOVÉHO REAKTORU



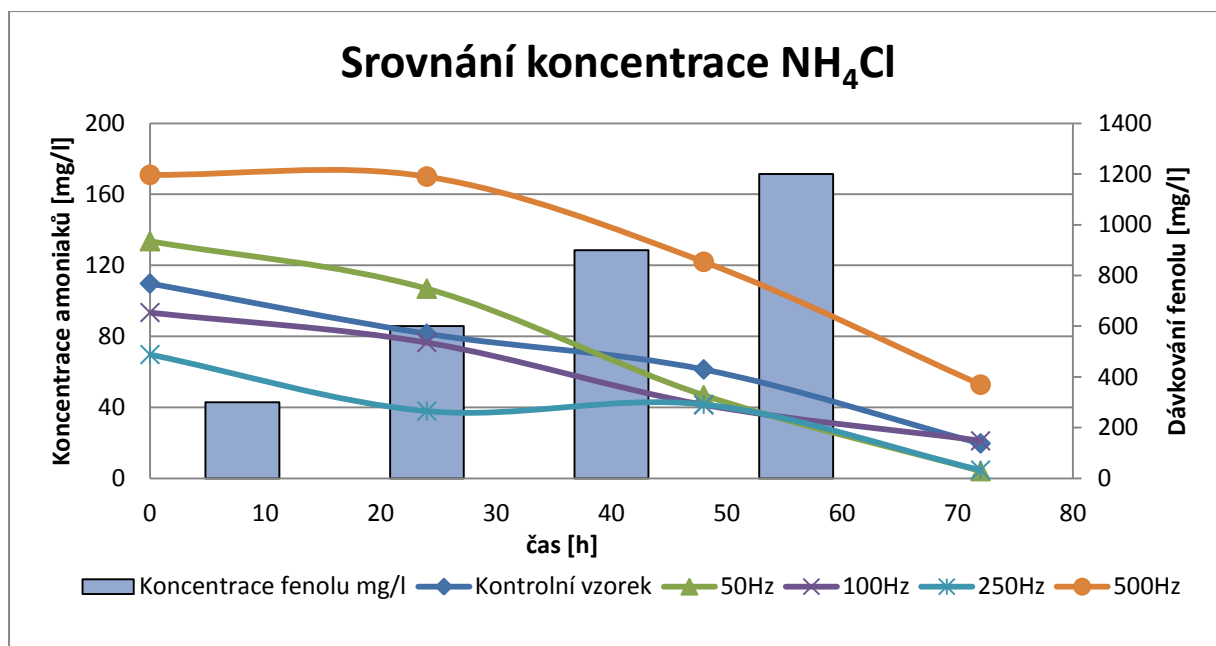
Graf č. 1 srovnání zdegradovaného fenolu

Z grafu je patrné, že bakteriální populace, vystavená kvazistacionárnímu magnetickému poli o frekvenci 500 Hz, udržuje téměř lineárně rychlost biodegradace dvakrát déle, než kontrolní vzorek a to i do poměrně vysoké koncentrace fenolu. Limitní koncentrace fenolu pro bakteriální populaci při frekvenci 500 Hz je 1200 mg/l, při vyšších koncentracích ustává biodegradace a bakterie zpracovávají fenol pomaleji. Kontrolní vzorek udržuje konstantní rychlost biodegradace do koncentrace 700 mg/l, při dalším zvýšení koncentrace dochází ke snížení rychlosti biodegradace. Limitní stav pro kontrolní vzorek je 1000 mg/l kdy dochází k zastavení biodegradace a inhibování bakterií. Bakterie vystavené frekvenci 50 Hz mají vysokou aktivitu v prvních 12 hodinách průběhu testu. Jejich rychlost biodegradace fenolu je dvakrát vyšší než u kontrolního vzorku, ovšem jen pokud koncentrace fenolu nepřekročí 300 mg/l. Při vyšší koncentraci fenolu dochází ke zpomalení biodegradace. Limitní stav nebyl změřen, jelikož bakteriální populace byla schopna degradovat nadávkovaný fenol až do konce měření, kdy bylo dávkováno 1200mg/l



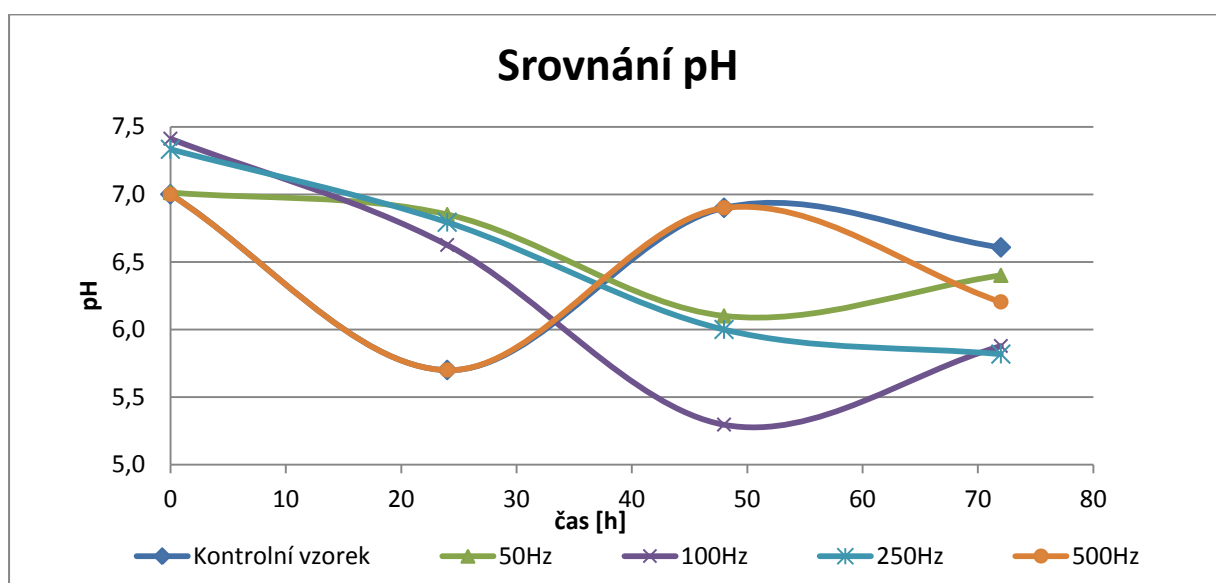
Graf č. 2 srovnání absorbance

Graf znázorňuje růst bakteriální populace v čase v závislosti na množství nadávkovaného fenolu. Bakterie vystavené frekvenci 500 Hz, vykazovaly stálý růst v průběhu testu až do limitní koncentrace fenolů, kdy dosáhly svého maxima a v důsledku dosažení limitního stavu či v důsledku vyčerpání substrátu, dochází k zastavení růstu populace. Nárůst bakteriální populace oproti kontrolnímu vzorku byl vyšší o 41%. Bakterie vystavené frekvenci 50 Hz měli z počátku nižší nárůst populace o 50% než vzorek kontrolní, či bakterie vystavené frekvenci 500 Hz. Tato bakteriální populace byla schopna při poloviční absorbanci, degradovat stejné množství fenolu, jako bakteriální populace z kontrolního vzorku, což znamená, že pole o frekvenci 50 Hz má značný vliv na tyto mikroorganismy. Naměřené absorbance v průběhu experimentu poukazují na stálý růst této bakteriální populace a to i při koncentraci 1200 mg fenolu na litr, pravděpodobně v důsledku ještě nevyčerpaného substrátu.



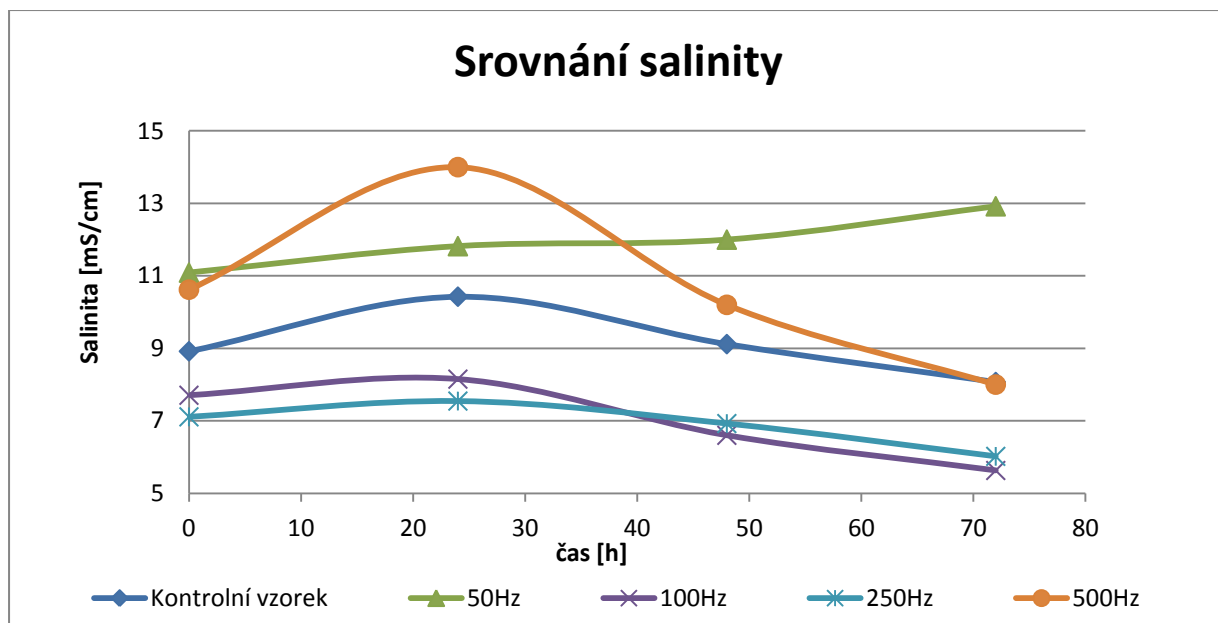
Graf č. 3 srovnání koncentrace amoniaků

Z grafu lze podotknout, že trend poklesu koncentrace amoniaků  $\text{NH}_4\text{Cl}$  se velmi neliší, od kontrolního vzorku. Amonná sůl byla měřena v důsledku hodnocení možné rozdílné utilizace amonného iontu pro vzorek kontrolní a pro vzorek vystavený magnetickému poli (případně různým frekvencím). Pro jednotlivé vzorky (resp. frekvence) byla amonná sůl spotřebovávána různorodě, nejvyšší spotřeba byla změřena pro frekvence 500 Hz.



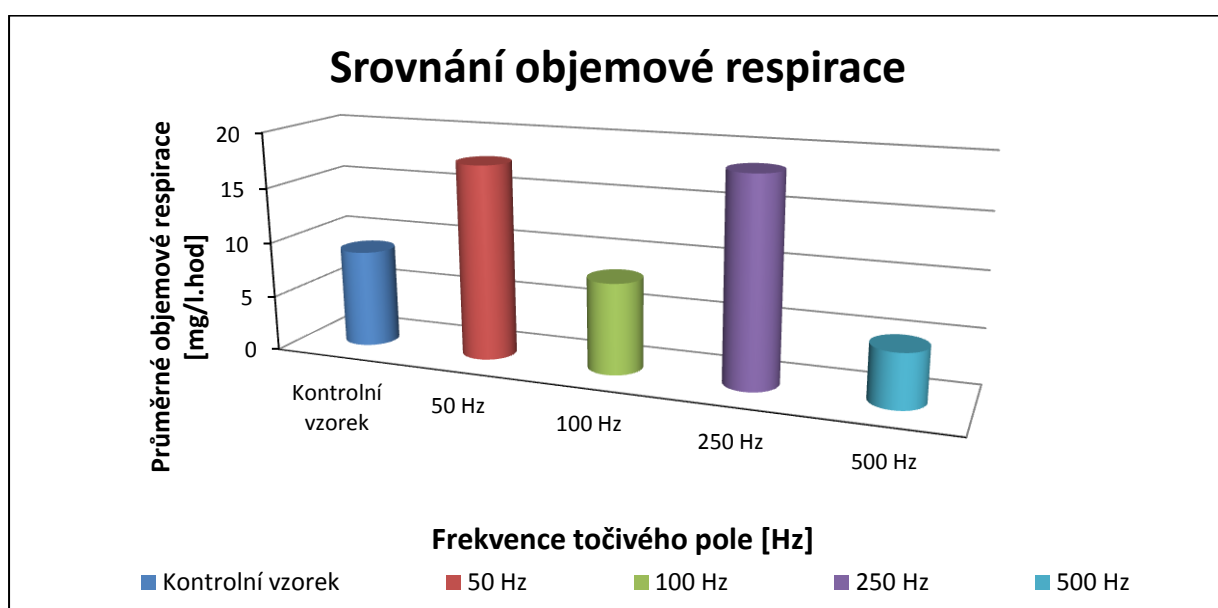
Graf č. 4 srovnání pH

Graf srovnání pH ukazuje změny v hodnotách pH v časovém průběhu, které jsou dány biologickými procesy při biodegradaci fenolu. Změnu pH způsobují nitráty.



Graf č. 5 srovnání salinity

Z grafu je patrné, jak se salinita mění v čase, kdy z počátku narostla a poté klesala. Počáteční růst salinity je dán obsahem solí v roztoku, které zvyšují svůj obsah. Následující mírný pokles je dán doplňováním vody do reaktoru a krystalizací solí na vrchním okraji reaktoru (kádinky).



Graf č. 6 srovnání objemové respirace

Graf ukazuje, jak dané magnetické pole ovlivňuje respirační aktivitu bakteriální populace pro vzorky o různé frekvenci kvazistacionárního pole. Jedná se o zbytkovou respiraci (po vyčerpání substrátu, endogenní). Nejvyšší respirační aktivita pro kvazistacionární magnetické pole je dosažena pro vzorek o frekvenci 250 a 50 Hz. Pole o frekvencích 100 a 500 Hz mírně potlačují respirační aktivitu bakteriálních populací.

## 9.2 MĚŘENÍ S PRŮTOKOVÝMI REAKTORY

První měření probíhalo 18.-22.3.2013. První měření s uzavřeným průtočným systémem. Průtok byl nastaven na 160 ml za hodinu. V tomto měření byla hodnota vodivosti připravena na zhruba 32,8 mS/cm. Z několika předchozích měření, kde byly vzorky pouze vsádkové a neprůtokové. Bylo zjištěno, že při vodivosti okolo 40 mS/cm je úbytek fenolu nejvyšší. Tudíž při několika následujících měření byla vodivost, pomocí umělého dosolení, vždy upravena na hodnotu přibližující se k 40 mS/cm.

V tomto měření jsou hodnoty koncentrace fenolu skoro stejné. Důvodem může být krátká expozice bakterií v magnetickém poli. To je dáno tím, že se jednalo o průtokový reaktor, kde byla bakteriální populace vháněna pomocí čerpadel do reaktoru a zpět. Bakterie tedy nebyly vystaveny poli nepřetržitě, ale jen v krátkých intervalech. Nosič biofilmu byl umístěn v zásobním roztoku, který nebyl pod vlivem pole. Rozdělení křivky na jednotlivé části je dáno tím, že po 24 hodinách, kdy klesla koncentrace téměř na nulu, byl fenol v reaktoru doplněn na hodnotu 300 mg/l. Nízká koncentrace fenolu vede k úhynu bakterií, jelikož se nemají čím živit.

Druhé měření probíhalo 27.–29.3. 2013. Průtok byl nastaven na 80 ml za hodinu. V tomto měření byla hodnota vodivosti připravena na zhruba 37,2 mS/cm.

Po 30 hodinách bakterie zpracovaly veškerý fenol. Fenol byl doplněn na hodnotu 300 mg/l. Do druhého dne bakterie v obou reaktorech spotřebovali všechny fenol znova na nulu, jelikož nebyl odebrán vzorek v tomto časovém úseku, není vidět změna v koncentracích a pokles.

V tomto měření byla populace v kontrolním reaktoru aktivnější, tudíž spotřeba kyslíku byla vyšší. Tato skutečnost bude dána tím, že bakterie v reaktoru s elektromagnetickým polem už neměli dostatek fenolu a tak začal hynout, proto byla i jejich aktivita nižší.

Třetí měření probíhalo 3.–5.4. 2013. Zde byl průtok nastaven na 250 ml za hodinu, vodivost připravena na 37.3 mS/cm.

Po 25 hodinách v obou reaktorech klesla koncentrace téměř na nulu a byla pozorována rychlost úhynu bakterií. Po 50 hodinách byl fenol doplněn na hodnotu 300 mg/l. A po dalších 5 hodinách změřena koncentrace, bakteriální populace v kontrolním reaktoru reagovali lépe a zpracovala fenol rychleji.

Velmi nízká hodnota absorbance u reaktoru s polem v 23 hodině je daná tím, že značná část bakterií se usadila na dně jádra reaktoru a při měření nedošlo k jejich rozmíchání.

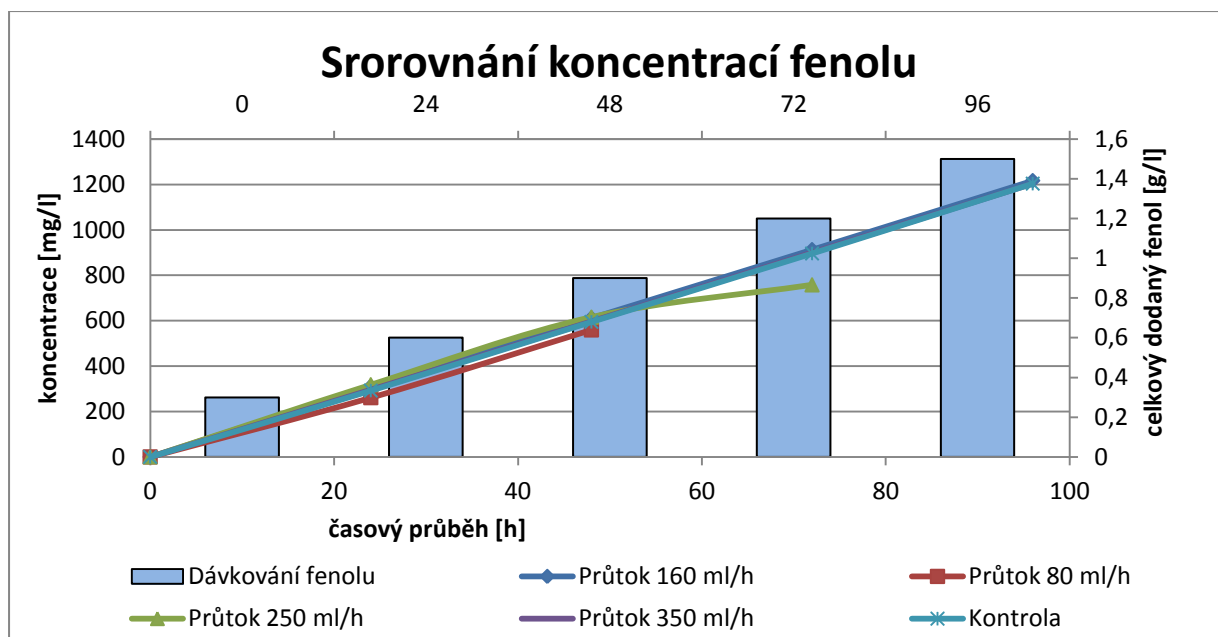
Čtvrté měření probíhalo celý týden 15.4. až 19.4. 2013. Průtok při tomto měření byl 350 ml za hodinu. Hodnota vodivosti byla připravena na 39,1 mS/cm.

V tomto měření zpracovával reaktor s elektromagnetickým polem fenoly rychleji až po 24 hodinách kultivace. Zde je vidět, že krátká expozice v elektromagnetickém poli nestačí ovlivnit bakterie tolik, jako při dlouhodobém vystavení. Je zde však pozorováno, že při nižší expozici než v předešlém měření bakterie zpracovávají fenol rychleji, to může být dáno bakteriálními cykly dělení a jejich metabolismu.

Bakteriální populace v elektromagnetickém poli měla mnohem vyšší počet než populace v kontrolním reaktoru.

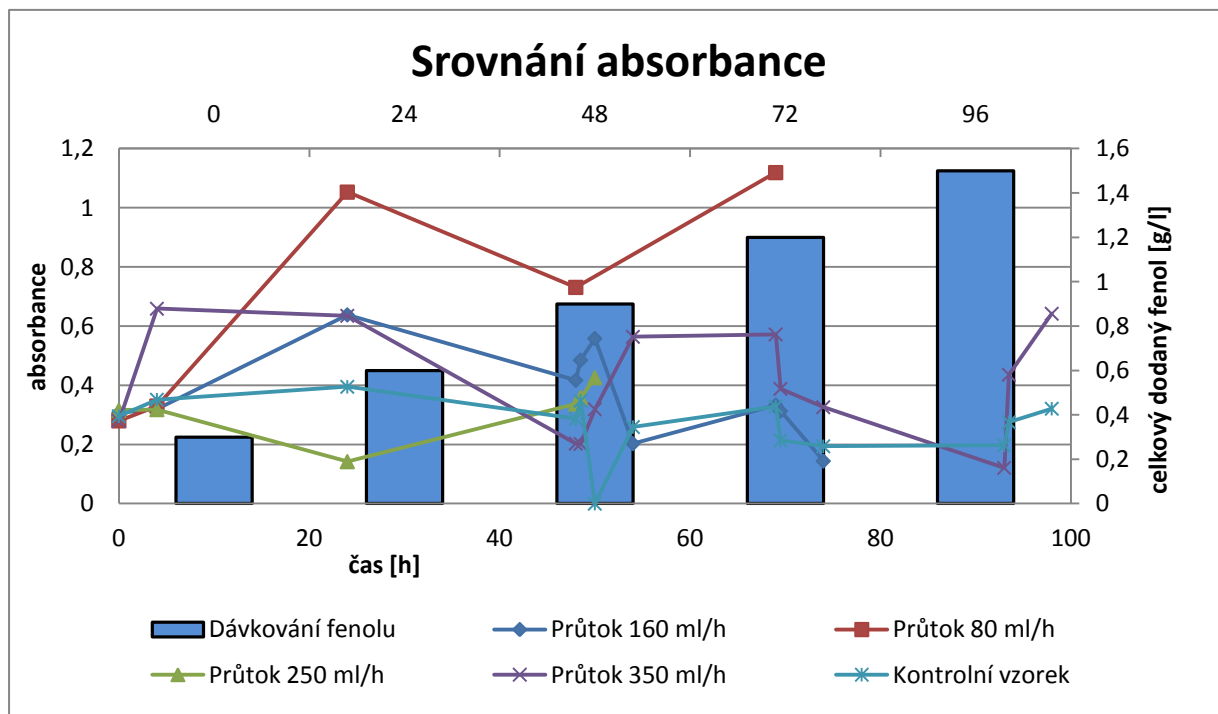
Vodivost neúměrně rostla s růstem bakteriální populace. Vyšší vodivost u kontrolního vzorku je dána tím, že došlo k vypaření části vodného roztoku ze zásobníku, tudíž zvýšená koncentrace solí zvýšila i vodivost.





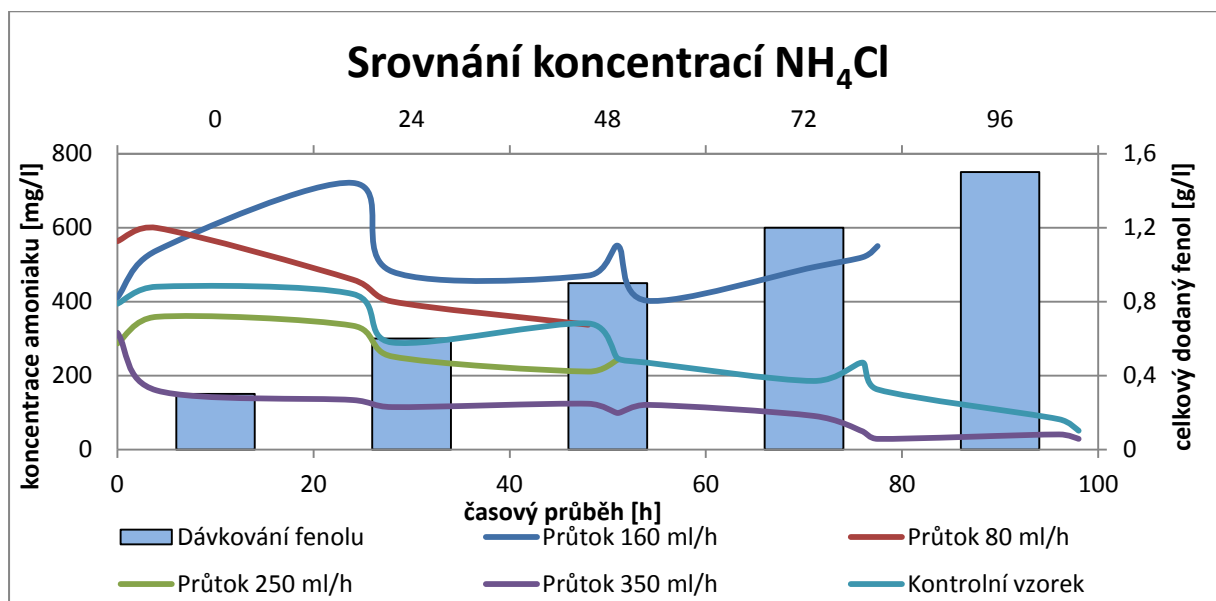
Graf č. 7 srovnání koncentrací fenolů

Z grafu je patrné, že rozdíl mezi kontrolním vzorkem a vzorky vystavenými magnetickému poli není velký a biodegradace fenolu je téměř stejná. Krátká expozice v magnetickém poli znamená, že magnetické pole musí na bakterie působit delší časový interval.



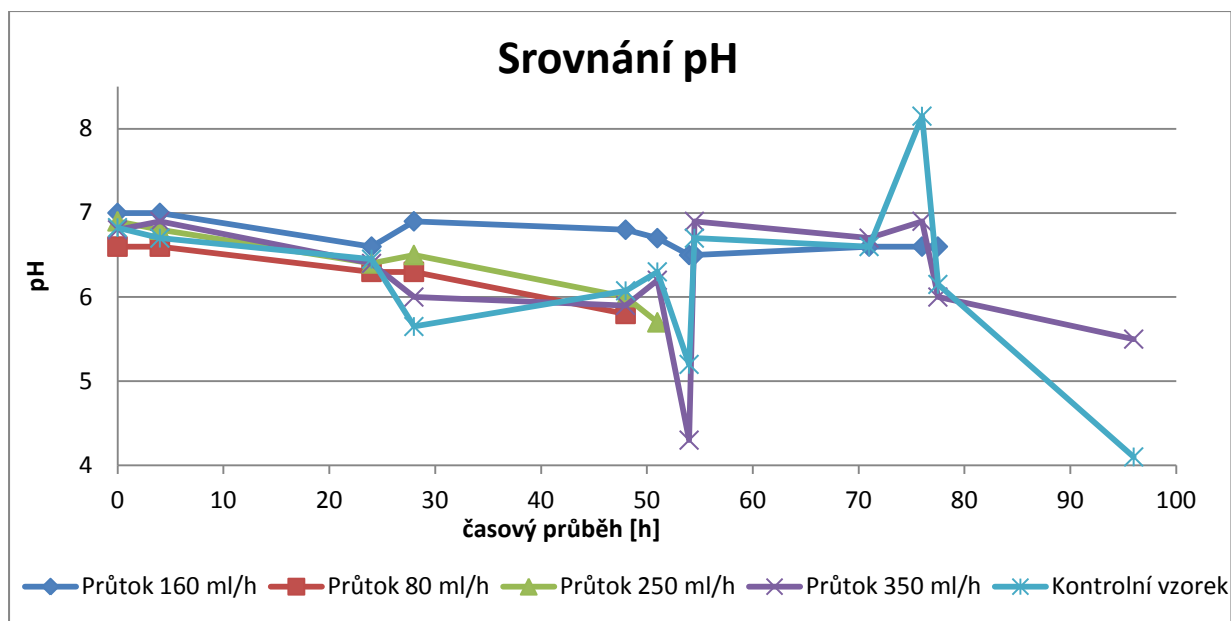
Graf č. 8 srovnání absorbance

Značné rozdíly v absorbanci jsou dány vývojem bakteriální populace a obsahem fenolu v roztoku. Pokles absorbance způsobuje nízká koncentrace fenolu, kdy bakterie spotřebují všechny substrát a dochází tak k úhynu. To má za následek pokles absorbance. Dalším důvodem poklesu absorbance je usazování bakteriální populace na nanovláknenný nosič a stěny reaktoru, kde jsou pevně usazeny. Nárůst absorbance způsobuje růst bakteriální populace v reaktoru. Nejvyšší nárůst a zároveň nejvyšší byl pozorován při nízkém (80ml/h) průtoku mezi kontaktem a reaktorem.



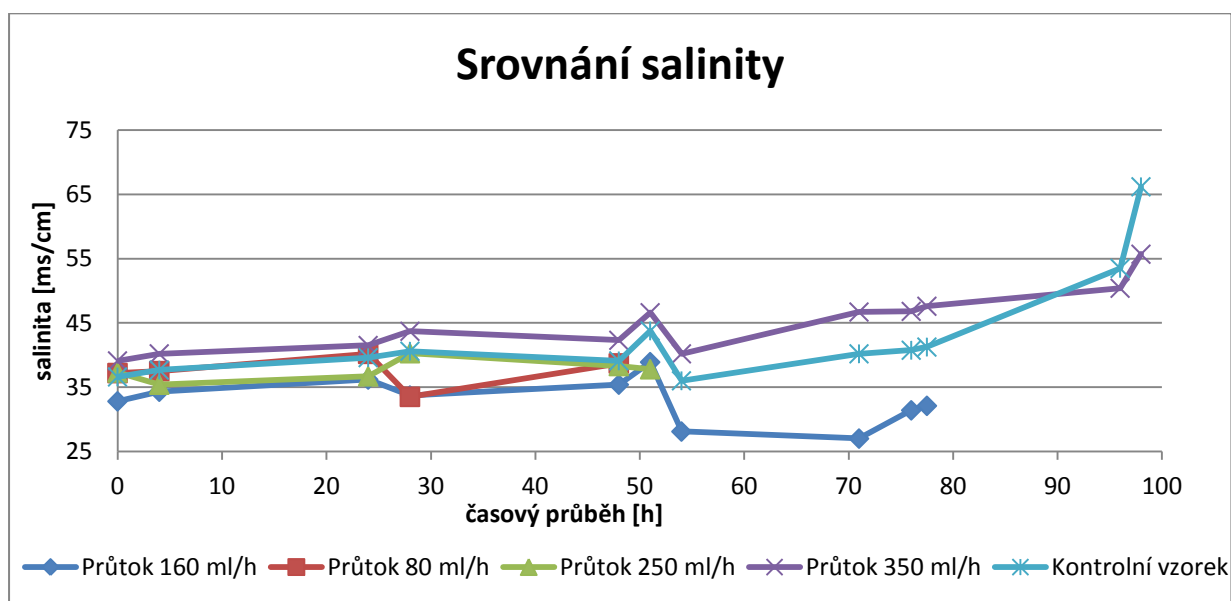
Graf č. 9 srovnání koncentrací amoniaků

Graf srovnání koncentrací amoniaků  $\text{NH}_4\text{Cl}$  koresponduje s grafem absorbance a to tím, že nejvyšší spotřebu amoniaků má bakteriální populace z reaktoru s průtokem 80ml/h a spotřeba amoniaků činila 260mg/l za dva dny. Nárůst koncentrace amoniaků při průtoku 160ml/h v prvních 24 hodinách je dán chybou v měření, kdy by koncentrace měla klesnout, nikoliv stoupat.



Graf č. 10 srovnání pH

Náhlý pokles pH je dán vznikem nitrátů v reaktoru, při biologickém odbourávání fenolu. skoková změna pH byla ošetřena srovnáním pH v reaktoru na hodnotu přibližně pH 7. Pro úpravy pH byl použit hydroxid sodný a to ke zvýšení pH na vyžadovanou hodnotu.

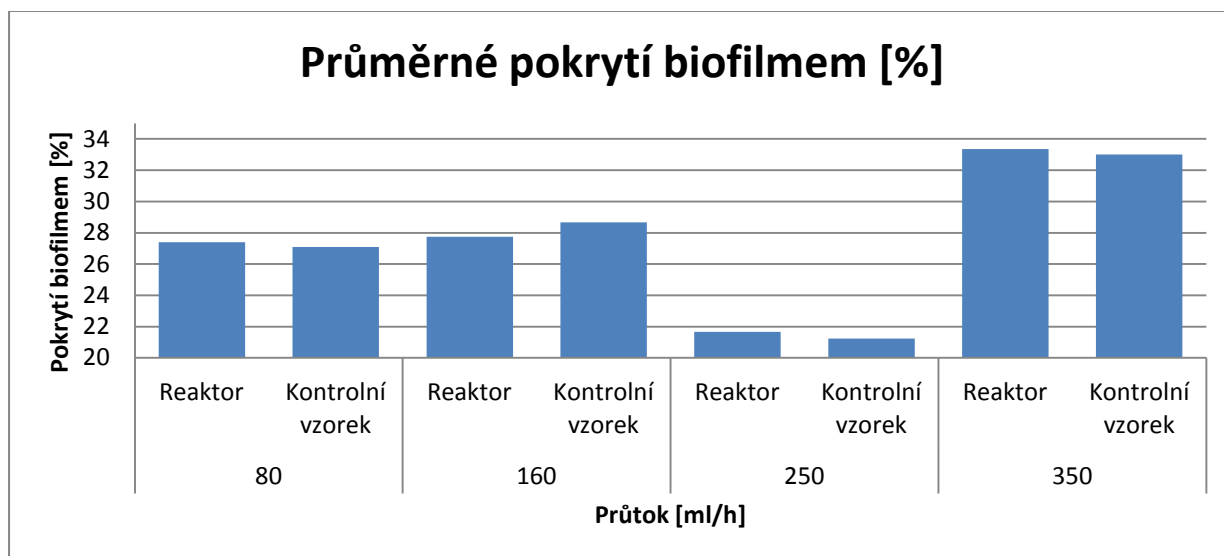


Graf č. 11 srovnání salinity

Mírný růst salinity je dán růstem bakteriální populace. Skoková změna v 52. hodině je dána doplněním vody do reaktorů. Voda byla doplňována kvůli odparu z otevřených kádinek.

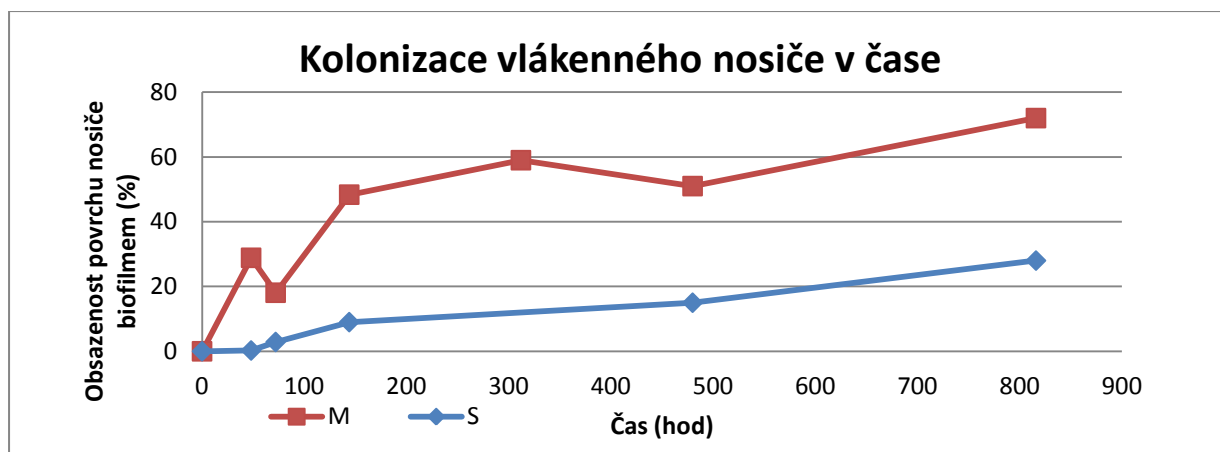
### 9.3 VÝSLEDNÉ POKRYTÍ BIOFILMEM

Pokrytí vláken biofilmem u reaktoru a kontrolního reaktoru se lišilo jen o jednotky procent. U tří ze čtyř měření bylo pokrytí biofilmem vyšší u reaktoru, který byl vystaven magnetickému poli, pouze v jednom případě bylo pokrytí biofilmem vyšší u kontrolního reaktoru. Průměrné pokrytí biofilmem, bylo zkoumáno po čtyřech dnech (96 hodin) kultivace v reaktoru. Hodnocení průměrného pokrytí biofilmem, bylo provedeno vždy na třech vláknech z každého reaktoru. Na všech vláknech bylo hodnoceno vždy šest oblastí. Všechny výsledky byly zprůměrovány a vyneseny do sloupcového grafu viz níže.



Graf č. 12 průměrné pokrytí biofilmem

Dlouhodobé pozorování kolonizace nanovláknenného nosiče, ukázalo značný rozdíl mezi kolonizací ve vzorku kontrolním a vzorku s magnetickým polem. Vzorek v magnetickém poli byl kolonizován během experimentu zhruba o 50% více, než vzorek kontrolní. Měření kolonizace se provádělo pomocí obrazové analýzy, výsledná hodnota je průměr měření ze šesti kusů vláken.



Graf č. 13 kolonizace vláknenného nosiče v čase

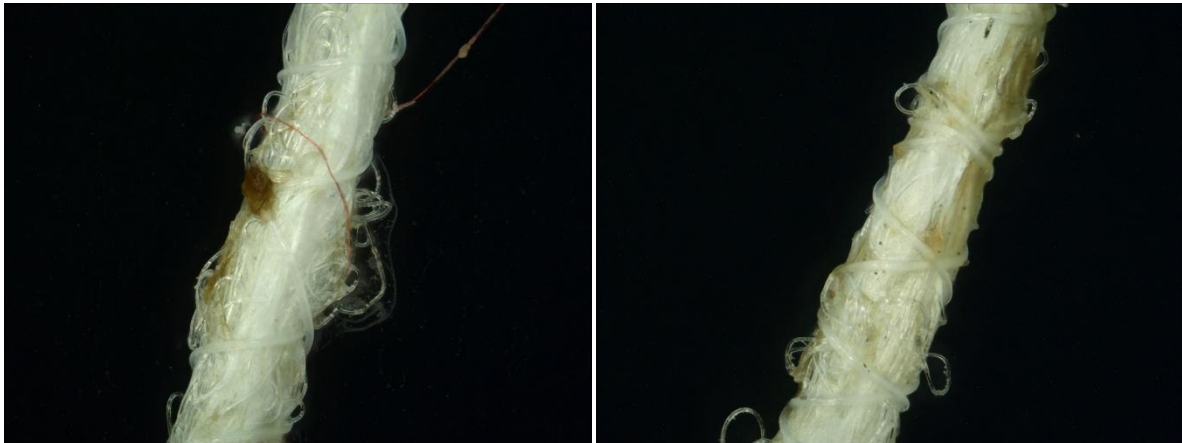
Vzorek magnetického pole je v grafu popsán jako „m“ a kontrolní vzorek, je popsán jako „s“. Z grafu je patrný značný rozdíl mezi vzorky „m“ a „s“ a to až o 50% v prospěch vzorku „m“.

## Vyhodnocení biofilmu

Snímky bakteriálních biofilmů na nosičích byly pořízeny digitálním systémem, který se skládal z mikroskopu Olympus BX51M, digitální jednooké zrcadlovky Olympus E-510 a počítačového softwaru QuickPHOTO MICRO 2.3. Jelikož mikroskop disponuje velice malou hloubkou ostrosti, bylo využito komerčního softwaru QuickPHOTO MICRO 2.3 s přídatným modulem Deep Focus 3.1, který využívá efektivního algoritmu, jenž je schopen vytvářet snímky s extrémní hloubkou ostrosti, což umožňuje získat jeden kompletně proostřený snímek nosiče. Jeden proostřený snímek se může skládat dokonce až ze 70 jednotlivých fotografií (počet fotografií na jeden snímek je závislý na tloušťce snímaného objektu). Rozlišení snímaných obrazů bylo nastaveno na nejvyšší možné, tj.  $3648 \times 2736$  pixelů (9.98 megapixelů) a data byla ukládána ve formátu JPEG. Optické zvětšení  $50\times$  (případně  $200\times$ ) byly vybrány tak, aby ze vzorků mohly být získány všechny potřebné informace.

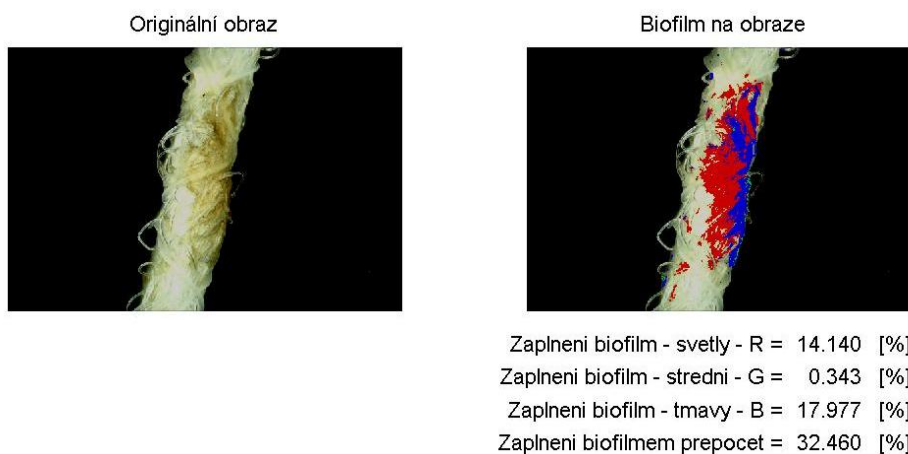
K následnému určení imobilizované biomasy byl využit naprogramovaný automatizovaný kód [13]. Černé zbarvení v obraze odpovídá pozadí, což bylo zajištěno snímáním objektu v temném poli. Světlé odstíny bílé až šedé odpovídají povrchu nosiče. Odstíny žluté až hnědé odpovídají mikrobiálnímu biofilmu, kde odstín je způsoben přirozeným zbarvením biofilmu (závislé na použité mikrobiální kultuře). Poměrem plochy biofilmu, který zabírá na podkladovém nosiči, bylo vypočteno procentuální zaplnění (obsazenost povrchu nosiče biofilmem), rostoucí plocha biofilmu v čase odpovídá grafu kolonizace nanovláknenného nosiče.

## Snímky vláken s biomasou



Obr. č. 14 vlákna s biofilmem

Na snímcích je zobrazeno vlákno, na kterém je zřetelná biomasa hnědé barvy.



Obr. č. 15 vyhodnocování hustoty biofilmu

Tyto snímky vyobrazují postup hodnocení bakteriální biomasy, neboli jejich kolonizaci na nosiči.

## ZÁVĚR

Účelem práce bylo vyhodnocení účinků magnetického pole na biodegradaci fenolu, při využití bakterie *Rhodococcus Erythropolis* ve vsádkovém a průtočném reaktoru. Chemické analýzy zahrnovaly měření fenolů, respirace bakterií, amoniaků, pH, vodivosti a absorbance vzorku. Dále pak bylo vyhodnocováno pokrytí nanovlákněného nosiče biofilmem. Tyto hodnoty jsou využity pro zjištění parametrů stavu obou reaktorů. Z výsledků měření vyplývá, že využití magnetické pole ovlivňuje bakterie rodu *Rhodococcus Erythropolis* a má pozitivní účinky.

Z výsledků naměřených při vsádkových experimentech, kdy byly bakterie vystavovány elektromagnetickému poli nepřetržitě 3 až 5 dní, lze vyvodit závěr, že využití elektromagnetického pole má za následek rychlejší biodegradaci. Při experimentech bylo naměřeno vyšší množství bakteriální populace v roztoku, v průměru o 13 %. Vsádkové reaktory s elektromagnetickým polem zpracovávaly fenol v průměru o 7 % rychleji. Důvodem, proč bakterie zpracovávaly fenol rychleji, mohou být takové, že populace byla vyšší, ovšem spotřeba fenolu nebyla přímo úměrná jejich množství. Z experimentu vyplývá, že bakterie ve sádkovém reaktoru se spíše rychleji množí. Přesné příčiny této skutečnosti by bylo potřeba dále zkoumat.

Při testování frekvence 50 Hz dosahovalo točivé pole vyšších hodnot odstraňování fenolu, než pole s frekvencí 0 Hz, tudíž se projevilo pozitivní ovlivnění bakteriální populace. V porovnání se kontrolním vzorkem však dosahuje pouze mírně nižších hodnot koncentrace fenolu, avšak tento předpoklad se projevil u všech provedených testů. Tyto výsledky korespondují s daty, které vyhodnotili kolegové z Masarykovy university v Brně (Petr Klapetek, Lukáš Fojt, Luděk Strašák, Vladimír Vetterl). Při frekvenci 100 Hz se projevil negativní vliv na bakteriální populaci, bakterie byly inhibovány a nerozkládaly fenol, ovšem při opětovném měření byly bakterie aktivnější, než při předchozím měření, to je dáno vyšším množstvím bakteriální populace, kterou potvrdily i testy KTJ. Vyhodnocení naměřených dat ukázalo, že pozitivní vliv se u frekvence 100Hz neukázal jako významný. Jelikož je rozdíl oproti kontrolnímu reaktoru jen mírný. Při frekvenci 250 Hz pozitivní účinek na bakteriální populaci taktéž jednoznačně neprokázal. Točivé magnetické pole vykazovalo hodnoty odbourání fenolu podobné jako pole s frekvencí 0 Hz, které má výhodu v tom, že nevyžaduje další vstupní finanční náklady a z toho vyplývající bezúdržbovou.

Nejlepších dosavadních výsledků dosáhly bakterie v kvazistacionárním poli o frekvenci 500 Hz. Průměrná degradace fenolu u těchto měření je zhruba o 30% vyšší, než u kontrolního reaktoru. Výsledky z testů KTJ korespondují s naměřenými hodnotami, tudíž jsme tuto frekvenci vybrali pro další zkoumání.

Výsledky experimentů s průtokovým reaktorem, kde byl využit zásobník s nosičem, naznačují také zvýšený bakteriální růst. Zde vycházíme i z výsledků hodnocení biofilmu, narostlého na nosiči. Porovnávání biofilm v reaktorech (s elektromagnetickým polem a bez něj) koresponduje s absorbancí naměřenou v tomto experimentu a s výsledky absorpance ve vsádkových měření. Lze vyvodit, že elektromagnetické pole má vliv na růst bakteriální populace, avšak je potřeba přesnou příčinu tohoto růstu více prozkoumat a znovu ověřit.

Z dosavadních výsledků obou druhů měření (vsádkové a průtokové) je patrné, že elektromagnetické pole má vliv na biodegradaci a v případě užitého konkrétního elektromagnetického pole v experimentu, je vliv pozitivní. Při experimentech bylo pozorováno zvýšené usazování a lepší přilnavost bakteriální populace k povrchu všech materiálů, jenž přišli do styku s roztokem, který byl ovlivňován elektromagnetickým polem oproti vzorku bez pole. Možnost praktického využití má spíše vsádková metoda a to hlavně k namnožení bakteriální populace, kterou dále lze použít ve fungujícím reaktoru. Pro tyto účely je nutné ještě pozorovat dlouhodobé účinky, které elektromagnetické pole zanechá na bakteriální populaci. Při průtokové metodě by zřejmě bylo nutné zvolit nižší rychlost průtoku, aby byla bakteriální populace dostatečně ovlivněna polem. Předmětem dalších výzkumů by bylo vhodné prozkoumat různé hodnoty elektromagnetického pole a to intenzitu a frekvenci kvazistacionárního elektromagnetického pole.



## LITERATURA

- [1] DIALLO, M., et al.: Nanotechnology Applications for Clean Water. William Andrew, 1st ed., ISBN-10: 0815515782, ISBN-13: 978-0815515784, 2009.
- [2] PAPAZOGLU, E. S., PARTHASARATHY, A., BioNanotechnology. Morgan and Claypool Publishers, 1st ed., ISBN-10: 1598291386, ISBN-13: 978-1598291384, 2007.
- [3] HAŇKA, L.: Teorie elektromagnetického pole, SNTL, ISBN 0450682, Praha 1975.
- [4] KATO, M.: Electromagnetics in Biology, Springer 2006, ISBN-13 978-4-431-27913-6.
- [5] SEDLÁK, B., ŠTOLL, I.: Elektřina a magnetismus. Praha: ACADEMIA, 2002. ISBN 80-200-1004-1.
- [6] ROSYPAL, Stanislav. Nový přehled biologie. [s.l.] : Scientia, 2003. s. 797.
- [7] *Biodegradace a biodeteriorace*: sylabus k předmětu Základy biodegradace a biodeteriorace. VŠCHT Praha, Ústav kvasné chemie a bioinženýrství. Dostupné z WWW:  
  
<[http://eso.vscht.cz/cache\\_data/1175/www.vscht.cz/kch/kestazeni/sylaby/biodegbiodet.pdf](http://eso.vscht.cz/cache_data/1175/www.vscht.cz/kch/kestazeni/sylaby/biodegbiodet.pdf)>.
- [8] HORÁKOVÁ, D. Bioremeriace [online]. 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita, 2007 [cit. 2011-12-14]. Dostupné z: <<http://is.muni.cz/elportal/?id=710435>>. ISBN 1802-128X.
- [9] SEDLÁK B., ŠTOLL I. *Elektřina a magnetismus*, akademie věd České Republiky 2002
- [10] *Vliv elektromagnetických polí na organizmy*, sborník přednášek, pobočka ČVTS elektrotechnické fakulty ČVUT v Praze a ústřední výbor CVTS společnosti elektrotechnické Praha 1977
- [11] *Vliv nízkofrekvenčních elektromagnetických polí na bakterie*, bakalářská práce Vladimír Vinarský, Masarykova univerzita Přírodovědecká fakulta, Brno 2006
- [12] konzultace Ing. Martin Truhlář, Ph.D., Ústav mechatroniky a technické informatiky, FM, TUL
- [13] konzultace Ing. Lucie Křiklavová, NTI Ústav nových technologií a aplikované informatiky, TUL, Cxi
- [14] EPA Pollutants and Toxics, <http://www.epa.gov/epaoswer/general/risk/emrad.htm>
- [15] Hazardous Substance FactSheet, New Jersey Department of Health and Senior Services, <http://www.state.nj.us/health/eoh/rtkweb/rtkhsfs.htm>

[16] Scorecard, ThePollutionInformationSite, <http://www.scorecard.org/chemicalprofiles/index.tcl>

[17] ACTA ENVIRONMENTALICA UNIVERSITATIS COMENIANAE (BRATISLAVA)  
Vol. 19, Supplement (2011): 268–270 ISSN 1335-0285

[18] <http://www.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/rhodo.htm>

[19] WTW. Katalog Měřicí technika pro laboratoře a životní prostředí 2011. Dostupné

z WWW: <<http://www.wtwcz.com/index.php?s=3>>

[20] JIRSÁK O., LUKÁŠ D., SANETRŇÍK F., MARTINOVÁ L., CHALOUPEK J., RŮŽIČKOVÁ J., KOŠŤÁKOVÁ E., HRŮZA J. (2003) Production and properties of nanofibres. NANO 03, Brno University of Technology 2003. Page142-148. ISBN 80-214-2527-X.

[21] JIRSÁK O., BHARANITHARAN R., RŮŽIČKOVÁ J., KOŠŤÁKOVÁ E., HRŮZA J. (2004) Nanofibers andItsApplication. In HPTEX 2004, Coimbatore, India.

[22] MARTINOVÁ L., MÜLLEROVÁ J. (2005) Electrospinning of polymer blends, In: 5th WorldConf. AUTEX, 27-29 June 2005, Portorož, Slovenia.

[23] MILITKÝ J. (2007) Přednášky: Textilní vlákna; Speciální vlákna. II.thed. TUL, 423 p. ISBN 978-80-7372-169-5.

[24] MILITKÝ J. (2007)Technické textilie - vybrané kapitoly. IInded. TUL, 238 p. ISBN 978-80-7372-170-1.

[24] RŮŽIČKOVÁ J. (2004)Elektrostatické zvlákňování nanovláken. Isted. TUL, 54 p. ISBN 80-7083-867-1.

[25] Comparison of the low-frequency magnetic field effects on bacteria Escherichia coli, Leclercia adecarboxylata and Staphylococcus aureus.

Lukáš Fojt, Luděk Strašák, Vladimír Vetterl, Jan Šmarda

Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Královopolská 135, Brno 612 65, Czech Republic, Centre of Biophysics, Masaryk University, Královopolská 135, Brno 612 65, Czech Republic

Department of Biology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Joštova 10, Brno 662 44, Czech Republic

30 October 2003;

[26] Effects of low-frequency magnetic fields on bacteria Escherichia coli

Luděk Strašák, Vladimír Vetterl, Jan Šmarda

Laboratory of Biophysics, Department of Physical Electronics, Faculty of Science, Masaryk University, Královopolská 135, 612 65 Brno, Czech Republic

Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Královopolská 135, 612 65 Brno, Czech Republic. Department of Biology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Joštova 10, 662 44 Brno, Czech Republic 5 September 2001

[27] 50 Hz magnetic field effect on the morphology of bacteria

Petr Klapetek Lukáš Fojt, Luděk Strašák, Vladimír Vetterl

Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Královopolská 135, Brno 612 65, Czech Republic. Czech Metrology Institute, Okružní 31, Brno 638 00, Czech Republic. 9 April 2009

[28] Vliv nízkofrekvenčních elektromagnetických polí na bakterie. Vladimír Vinarský, Masarykova Univerzita, přírodovědecká fakulta, Brno 2006

[29] Effects of low-density static magnetic fields on the growth and activities of wastewater bacteria *Escherichia coli* and *Pseudomonas putida*

Jasmina Filipic, Barbara Kraigher, Brigita Tepuš, Vanja Kokol, Ines Mandic-Mulec Ptuj Municipal

Service Corporation, Puhova ulica 10, SI-2250 Ptuj, Slovenia, University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology, Vec̃na pot 111, SI-1000 Ljubljana, Slovenia, University of Maribor, Faculty of Mechanical Engineering, Institute for Engineering Materials and Design, Smetanova ulica 17, SI-2000 Maribor, Slovenia 15 January 2012

[30] Effects of magnetic field on activity of activated sludge in wastewater treatment

Hu̇lya Yavuz, Serdar S. C, elebib,

Environmental Engineering Department, Hacettepe University, 06532 Beytepe, Ankara, Turkey 6 January 1999